

CINtec® PLUS Cytology Kit

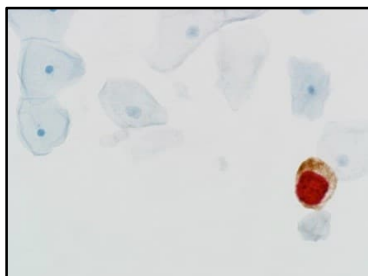
REF

605-100

06889565001

IVD

100



1. ábra P16^{INK4a} (barna citoplazmatikus festődés) és Ki-67 (piros nukleáris festődés) fehérjékre pozitív méhnyakhámsejt.

ALKALMAZÁSI TERÜLET

A CINtec PLUS Cytology Kit egy laboratóriumi használatra szánt immuncitokémiai vizsgálat, amely a p16^{INK4a} és a Ki-67 fehérjék egyidejű kvalitatív kimutatására szolgál a BenchMark IHC/ISH műszerrel festett méhnyakcitológiai preparátumokban. A javallott használata segítséget nyújt a vizsgált populáción belüli előrehaladott méhnyaki intraepiteliális léziójú nők azonosításában, illetve az ASC-US Pap citológiai eredményű (nem meghatározott jelentőségű atipikus laphámsejtű) vagy LSIL (alacsony fokozatú intraepiteliális laphám léziójú)

betegek alcsoporájában, vagy a pozitív magas rizikójú HPV-teszteredményű betegek esetében.

A teszt eredményeit kizárólag képzett szakember értékelheti ki, figyelembe véve a beteg kórtörténetét és a további elvégzett diagnosztikai tesztek eredményeit.

A termék in vitro diagnosztikai (IVD) felhasználásra szolgál.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

Eukarióta sejtekben a sejtosztódási ciklus folyamatának irányítását a sejtciklus szabályozó fehérjék szabályozott expressziójának és poszttranszlációs módosításainak komplex mintázata szabályozza. A p16^{INK4a} fehérje jelentős szerepet játszik az eukarióta sejtciklus szabályozásában. Ez a retinoblasztóma fehérje (pRb) által közvetített G1/S fázisátmenet-kontroll része, és a sejtciklus leállítását váltja ki a sejt differenciálódási folyamat során. Így a p16^{INK4a} fehérje gátolja a sejtosztódást a sejtciklus normál folyamata során.¹ A terminálisan differenciálódott hámsejtekben a szabályozó mechanizmusok általában olyan alacsony szinten tartják a p16^{INK4a} expresszióját, hogy immuncitokémiai (ICC) módszerekkel nem mutatható ki.²

Méhnyakdiszplázia esetén a p16 túlzott expresszióját a transzformáló HPV-fertőzések helyettes biomarkerének tekintik, amely a HPV E6/E7 onkoprotein által vezérelt sejtosztódást jelzi.^{2,3,4,5} Javasolták a p16 kimutatását méhnyakcitológiai készítményekben azon nők triázsának hasznos kiegészítő markereként, akiknek Pap-citológiai eredménye kóros és HPV-tesztje pozitív volt.^{3,4,5} Mivel azonban a p16 fehérjére specifikus festődés megfigyelhető egyedi metaplasztikus vagy endocervikális sejtekben is, amelyekben a p16 kifejeződése szolgálhatja a normál, növekedést gátló élettani funkcióját is, ezért a p16 egyszerűen festett méhnyakcitológiai készítmények értelmezéséhez szükséges a p16 immunreaktív sejtek azonosítása, és ezen sejtek további osztályozása a morfológiai eltérésekre utaló jelek tekintetében.^{2,3,4}

A p16 és a Ki-67 sejtosztódási marker egyidejű, ICC eljárással történő kimutatása egyazon sejten hasznos eszköznek bizonyult a diszplázias méhnyaksejtek azonosítására citológiai preparátumokban, amelyet nem szükséges morfológiai értékeléssel kiegészíteni.^{3,7,8} A Ki-67 egy sejtben és sejtmagvacsában lokalizálódó fehérje, amely szoros kapcsolatban áll a sejtosztódással, és amely hagyományos immunfestési eljárásokkal nem mutatható ki nyugalmi fázisú (G0) sejtekben.⁶ Normál élettani körülmények között a sejtosztódáshoz kapcsolódó Ki-67 fehérje és a sejtosztódást gátló p16 fehérje expressziója kölcsönösen kizárja egymást. Ezzel szemben azok a sejtek, amelyekben a sejtciklus folyamatát szabályozó retinoblasztóma-fehérje (pRB) által közvetített útvonal a p16 tumorsuppresszor funkciójától upstream inaktiválódik (mint például magas kockázatú HPV E6/E7 onkoproteineket kifejező hámsejtekben), képesek maradhatnak az osztódásra, így kifejezhetik a Ki-67 fehérjét a működő p16 jelenlétében is.^{2,3}

Ezért azoknak az egyedi sejteknek a méhnyakcitológiai preparátumokban történő kimutatása, amelyek egyidejűleg kifejezik a p16 és a Ki-67 fehérjéket, a morfológiától függetlenül jelezheti a hibás sejtciklus-szabályozású sejteket. A p16 és Ki-67 együttes expressziója a transzformáló HPV-fertőzések és a mögöttük meghúzódó cervikális intraepiteliális neoplázia indikátoraként szolgálhat.^{2,3} A közelmúltban számos tanulmányt végeztek és publikáltak, amely a p16/Ki-67 kettős citológiai festésének potenciális értékét és klinikai hasznosságát értékelte olyan nők azonosítására, akik számára a különféle elsődleges méhnyakráksűrési eredményeik alapján előnyös lehet a kolposzkópiai beutaló. Ezek az eredmények magukban foglalják azoknak a nőknek a triázsát, akiknél a PAP-citológia eredménye Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) vagy Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), illetve akik az elsődleges HPV-szűrés alapján magas kockázatú HPV-re pozitívak, és akiknek eredménye Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM)/HPV-pozitív klinikai környezetben, ahol az elsődleges szűrésre Pap-citológiát/egyidejű HPV-tesztelést használtak. 7-25

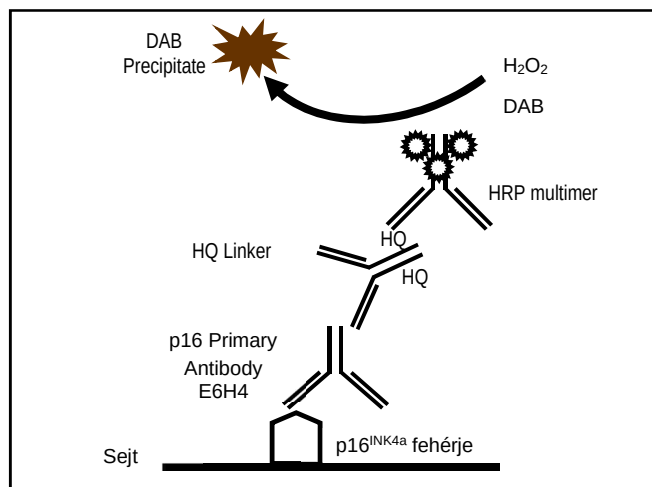
AZ ELJÁRÁS ELVE

A CINtec PLUS Cytology Kit egy reagenskészletet tartalmaz a p16^{INK4a} és a Ki-67 fehérjék egyidejű immuncitokémiai detektálásához a méhnyakból vett citológiai mintákban. A fehérjéket elsődleges monoklonális antitestek használatra kész kóktéljával mutatják ki, amely humán p16^{INK4a} fehérje (E6H4™ klón) elleni rekombináns egér monoklonális antitestet, valamint humán Ki-67 fehérje (274-11AC3V1 klón) elleni elsődleges rekombináns nyúl antitestet tartalmaz. A sejt kondicionálást, az endogén peroxidáz-aktivitás gátlását és az elsődleges antitest-kóktéllel történő inkubálást követően a vizsgálati rendszer két, használatra kész detektálási rendszert használ, melyeket méhnyakcitológiai mintákkal való használatra optimalizáltak:

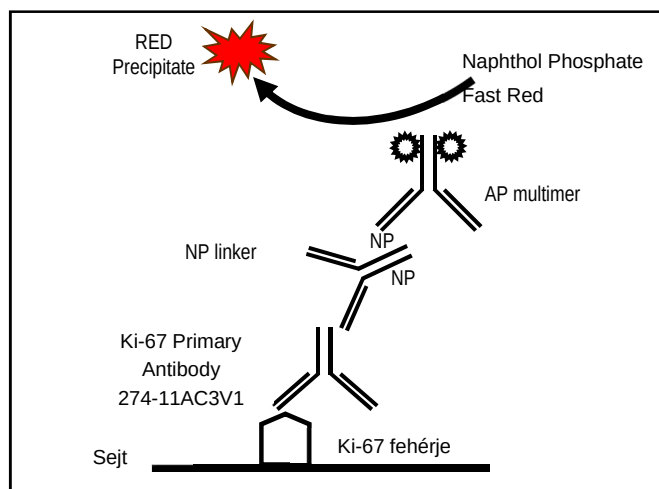
- Egy HQ hapténhez (szabadalmaztatott haptén) kovalensen kötött kecske eredetű anti-egér másodlagos antitest és egy anti-HQ haptén, tormaperoxidázzal (HRP) konjugált harmadlagos antitest monoklonális egér antitest E6H4 klón detektálására optimalizálva;
- Egy NP hapténhez (szabadalmaztatott haptén) kovalensen kötött kecske eredetű anti-nyúl másodlagos antitest és egy anti-NP haptén, alkalikus foszfatázzal (AP) konjugált harmadlagos antitest, nyúl rekombináns antitest 274-11AC3V1 klón detektálására optimalizálva.

A kromogén reakciók a 3,3'-diaminobenzidin-tetrahidroklorid (DAB) HRP általi konverzióján és a Fast Red AP általi Naphthol Phosphate vegyülettel történő konverzióján alapulnak, amely barna csapadékot eredményez a p16^{INK4a} antigénhelyen és piros csapadékot a Ki-67 antigénhelyen.

Az automatizált kontrasztfestést és kékítést követően kétlépeses rögzítési eljárás következik. A tárgylemezen először egy vizes alapú rögzítő közeggel végeznek mintarögzítést. Majd a tárgylemezre tartós rögzítő közeggel fedőlemezt helyeznek. A festési eredmények fénymikroszkópos megfigyeléssel értékelhetők.



2. ábra A humán p16^{INK4a} fehérje kimutatása.



3. ábra A humán Ki-67 fehérje kimutatása.

BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

A CIntec PLUS Cytology Kit 100 vizsgálathoz elegendő reagenst tartalmaz.

Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) a humán p16 ^{INK4a} fehérje elleni rekombináns egér monoklonális antitest E6H4 klónjának és a humán Ki-67 fehérje elleni elsődleges rekombináns nyúl antitest 274-11AC3V1 klónjának (< 5 µg/mL) koktélját tartalmazza fehérjét és ProClin 300 tartósítószeret tartalmazó pufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker NP-jelölt kecske eredetű, nyúl elleni IgG-t tartalmaz (< 10 µg/mL; az NP a kecske antitesthez kovalensen kötődő, szabadalmaztatott haptén) fehérjét és ProClin 300 tartósítószeret tartalmazó pufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology Red AP Multimer egér eredetű monoklonális, AP-jelölt anti-NP harmadlagos antitestet tartalmaz (< 20 µg/mL) fehérjét és ProClin 300 tartósítószeret tartalmazó pufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate Naphthol Phosphate reagenst tartalmaz (< 1%) ProClin 300 tartósítószerrel.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology Fast Red Fast Red reagenst tartalmaz (< 1%) ProClin 300 tartósítószeres acetátpufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor hidrogén-peroxid oldatot tartalmaz (< 5%).
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker HQ-jelölt kecske eredetű, egér elleni IgG-t tartalmaz (< 40 µg/mL; a HQ a kecske antitesthez kovalensen kötődő, szabadalmaztatott haptén) fehérjét és ProClin 300 tartósítószeret tartalmazó pufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology DAB HRP Multimer egér eredetű monoklonális, anti-HQ-jelölt HRP harmadlagos antitestet tartalmaz (< 10 µg/mL) fehérjét és ProClin 300 tartósítószeret tartalmazó pufferben.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology DAB 3,3'-diaminobenzidin-tetrahidrokloridot tartalmaz (< 1%) szabadalmaztatott tartósítószeret tartalmazó szabadalmaztatott stabilizálóoldatban.
Egy 10 mL-es adagoló	A CIntec PLUS Cytology DAB H ₂ O ₂ hidrogén-peroxidot tartalmaz (< 1%) foszfátpuffer-oldatban.

ÚJRAOLDÁS, KEVERÉS, HÍGÍTÁS, TITRÁLÁS

A CIntec PLUS Cytology Kit detektálókészlet használata a BenchMark IHC/ISH berendezéseken való használatra optimalizált. Nincs szükség a készlet reagenseinek újraoldására, keverésére, hígítására és titrálására.

A méhnyaki citológiai minta fixációjával és további feldolgozásával kapcsolatos ajánlott eljárásoktól való eltérés az eredmények lényeges módosulását eredményezheti, ami rendszeres belső ellenőrzéseket tesz szükségessé.

A kontrollokra vonatkozó további információkat lásd a Minőség-ellenőrzés című fejezetben.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

A festőreagenseket, például a VENTANA detektálókészleteket és a kiegészítő komponenseket, ideértve a negatív és pozitív kontrollszövetet tartalmazó tárgylemezeket nem biztosítjuk.

Előfordulhat, hogy a módszerleírásban felsorolt egyes termékek nem minden országban kaphatók. Érdeklődjön az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőjénél.

A következő reagensekre és anyagokra szükség van a festéshez, de ezeket a detektálókészlet nem tartalmazza:

1. Megfelelő kontrollok (opcionális, kérjük, olvassa el a Minőség-ellenőrzés című fejezetet)
2. Hematoxylin Counterstain (katalógusszám: 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (katalógusszám: 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (katalógusszám: 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (katalógusszám: 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (katalógusszám: 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (katalógusszám: 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (katalógusszám: 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (katalógusszám: 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (katalógusszám: 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol, denaturált (tisztaság: ≥ 95%)
12. BenchMark IHC/ISH berendezés
13. Superfrost Plus mikroszkópos tárgylemezek (Thermo Fisher Scientific) ajánlottak a hagyományos kenetekhez
14. ThinPrep Arcless mikroszkópos tárgylemezek (Hologic REF 70126-002) vagy Superfrost Plus mikroszkópos tárgylemezek (VWR REF 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (REF 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic REF 234004)
17. BD SurePath PreCoat tárgylemezek (a SurePath GYN készletben)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD REF 490522)
19. CC/Mount vizes rögzítőközeg (Roche REF 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Opcionális: Szárítókemence, amely képes fenntartani a 60 °C ± 5 °C hőmérsékletet
21. Általános célú laboratóriumi felszerelés

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

A kézhezvétel után és használaton kívül 2–8 °C-os hőmérsékleten kell tárolni. Ne fagyassza le. A felhasználónak validálnia kell a módszerleírásban meghatározottól eltérő tárolási körülményeket. A detektálókészlet a hűtőszekrényből való kivétel után azonnal felhasználható.

A reagens megfelelő felviteléhez és a reagens stabilitásának biztosításához az adagolókupakot minden használat után vissza kell helyezni, és az adagolókat függőleges helyzetben azonnal vissza kell tenni a hűtőszekrénybe.

Minden detektálókészleten megtalálható a lejárat idő. Megfelelő tárolás esetén a termék stabil marad a címkén feltüntetett időpontig. Ne használja a terméket az előírt tárolási idő lejárat idején túl. Nincs meghatározott jele a termék instabilitásának, ezért az ismeretlen mintákkal egyidejűleg pozitív kontrollt kell futtatni. Azonnal az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőjéhez kell fordulni, ha felmerül a reagens instabilitásának lehetősége.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

1. In vitro diagnosztikai (IVD) felhasználásra.
2. Kizárólag szakemberek általi használatra.
3. Kizárólag a megadott számú teszthez használható.

4. Bármely komponens csomagolásának sérülése esetén ne használja a termék tartalmát! A csomagolás vagy a csomag tartalmának sérülése esetén haladéktalanul vegye fel a kapcsolatot az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőével.
5. Ebben az oldatban ProClin 300 oldatot használnak tartósítószerként. Ez irritáló hatású anyagokra számít, és bőrrel érintkezve szenzibilizációt okozhat. A vele végzett munka során tegye meg az észszerű óvintézkedéseket. Kerülje a reagens szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyákkal történő érintkezését. Viseljen védőöltözetet és védőkesztyűt.
6. A humán vagy állati eredetű anyagokat biológiailag potenciálisan veszélyesként kell kezelni, és a megfelelő óvintézkedéseket betartva kell ártalmatlanítani. Expozíció esetén kövesse a felelős hatóságok egészségvédelmi irányelveit.^{26,27}
7. A reagenssel végzett munka során tegye meg az észszerű óvintézkedéseket. Kerülje a reagens szemmel, bőrrel vagy nyálkahártyákkal történő érintkezését. Kerülje a reagensnek beleélegzését. Használjon eldobható kesztyűt és viseljen megfelelő védőruházatot, amikor feltételezhetően karcinogén vagy mérgező anyagokkal dolgozik.
8. Ha a reagensnek érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet.
9. Kerülje a reagensnek mikrobiális kontaminációját, mert ez téves eredményekhez vezethet.
10. Az eszköz használatára vonatkozó további információkat lásd a BenchMark IHC/ISH berendezés felhasználói útmutatójában és a szükséges komponensek használati utasításában, a navifyportal.roche.com weboldalon.
11. A javasolt ártalmatlanítási módszert illetően vegye fel a kapcsolatot a helyi és/vagy országos hatóságokkal.
12. A citológiai minták – beleértve minden mintát fixálás előtt és után, valamint az azokkal érintkezésbe kerülő minden anyagot – kezelése és ártalmatlanítása során tartsa be a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére vonatkozó biztonsági óvintézkedéseket, valamint a vonatkozó hulladékkezelési követelményeket.
13. A termékbiztonsági címkézés elsősorban az EU GHS irányelveket követi. Szakképzett felhasználók részére igény esetén biztonsági adatlapot biztosítunk.
14. Az eszköz használatához esetlegesen kapcsolódó súlyos baleseteket a Roche területileg illetékes képviselőének és a felhasználó hivatalos címe szerinti tagállam vagy ország illetékes hatóságának kell bejelenteni.

Ez a detektálókészlet az 1272/2008 (EK) rendelet szerinti, alább látható besorolású összetevőket tartalmazza:

1. táblázat Veszélyekkel kapcsolatos információk.

Veszély	Kód	Nyilatkozat
	H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
	H350	Rákot okozhat.
	H412	Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.
	P201	Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
	P261	Kerülje a köd vagy a gőzök belélegzését.
	P273	Kerülni kell az anyag környezetbe való kijutását.
	P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/fülvédő használata kötelező.
	P308 + P313	Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni.
	P333 + P313	Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: Orvosi ellátást kell kérni.

Ez a termék az alábbi CAS-számú anyagokat tartalmazza:

- 868272-85-9: 3,3'-diaminobenzidín-tetrahidroklorid-hidrát
- 2682-20-4: 2-metil-2H-izotiazol-3-on
- 55965-84-9, a következők reakcióelegyét tartalmazza: 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1 arányú)

MINTA-ELŐKÉSZÍTÉS

A citológiai minták immuncitokémiai eljárásokra való megőrzéséhez a mintákat megfelelő módon kell kezelni. Minden mintát a sejtfeldolgozás standard módszerei szerint kell előkészíteni.

Az olyan elemek, mint a vér és a nyák elhomályosításának elkerülése érdekében győződjön meg róla, hogy a minta megfelel a Bethesda Guidelines²⁸ irányelveknek; az orvosoknak követniük kell az ajánlott mintavételi technikákat.

Az alábbi tárgylemez-előkészítési eljárások megfelelőek a CIntec PLUS Cytology Kit használata esetén:

- ThinPrep 2000 vagy 5000 Processor (Hologic Inc.) eszközön előkészített ThinPrep (Hologic Inc.) tárgylemezek ThinPrep Arcless Microscope tárgylemezek vagy Superfrost Plus tárgylemezek segítségével, a gyártó ajánlásának megfelelően;
- BD SurePath (BD Diagnostics) tárgylemezek a gyártó ajánlásainak megfelelően előkészítve.
- Kézi úton előkészített tárgylemezek (hagyományos kenetes tárgylemezek).

Ajánlott a betegmintákkal egyidejűleg megfelelő kontrollokat is futtatni (kérjük, olvassa el a Minőség-ellenőrzés című fejezetet).

Roche Cell Collection Medium minta-előkészítés

Az egészségügyi szakember által gyűjtött és a Roche Cell Collection Medium (RCCM) tápközegben tartott, a CINtec PLUS Cytology Kit készlet használatával immuncitokémiai festésre váró citológiai minták 6 hétig tárolhatók 15–30 °C-on, majd további 12 hétig 2–8 °C-on hűtve.

ThinPrep Arcless Microscope tárgylemezek vagy Superfrost Plus tárgylemezek szükségesek a CINtec *PLUS* Cytology Kit készlettel BenchMark IHC/ISH berendezéseken végzett immuncitokémiai festéshez.

Tárgylemezek előkészítése a Roche Cell Collection Medium tápközegbe gyűjtött mintákból, a ThinPrep 2000 Processor segítségével

A tárgylemezeket a Roche Cell Collection Medium tápközegbe gyűjtött mintákból készítették elő a ThinPrep 2000 Processor segítségével. Miután a ThinPrep 2000 Processor szekvencia befejeződött, a feldolgozott tárgylemez $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldatot tartalmazó fixáló ampullában ázik. Távolítsa el az ampullát a ThinPrep 2000 Processor fixálószeres fürdőjének tartójából, és helyezze át a feldolgozott tárgylemezt az ampullából egy $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldattal megtöltött tárolóedénybe. Inkubálja a tárgylemez(ek)e)t etanolban legalább 15 percig, de legfeljebb 60 percig. Minden 20 előkészített tárgylemez után cserélje le az etanolos oldatot a fixáló ampullában és tárgylemeztartóban. Az inkubációs idő letelte után távolítsa el a tárgylemez(ek)e)t az etanolos oldatból, és lapos felületre vízszintesen lefektetve legalább 60 percen át szárítsa az(ok)a)t. A megszártított tárgylemezeket fénytől védve, szobahőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell festeni azokat a CInTec PLUS Cytology Kit készlettel.

Tárgylemezek előkészítése a Roche Cell Collection Medium tápközegbe gyűjtött mintákból, a ThinPrep 5000 Processor segítségével

A tárgylemezeket a Roche Cell Collection Medium tápközegbe gyűjtött mintákból készítették elő, a ThinPrep 5000 Processor segítségével. Miután a ThinPrep 5000 Processor szekvencia befejeződött, a feldolgozott tárgylemezeket helyezze tárgylemezartó állványba, amit merítsen sz 95%-os, reagens tisztaságú fokozatú etanolos oldatot tartalmazó fixálószeres fürdőbe. Távolítsa el a fixálószeres fürdőt vagy tárgylemezartót a ThinPrep 5000 Processor berendezésből, és inkubálja a tárgylemezartók további legalább 15 percig, de legfeljebb 60 percig. Minden egyes futtatás után cserélje ki a tárgylemezartóban az etanolos oldatot. Az inkubációs idő letele után távolítsa el a tárgylemezeket az etanolos oldatból, és lapos felületre vízszintesen fektetve legalább 60 percen át szárítsa azokat. A megszáritott tárgylemezeket fénytől védve, szobahőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell védeni azokat a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel.

Mielőtt elvégezné az immuncitokémiai festést a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel, távolítsa el a ThinPrep 5000 Processor által használt eredeti tárgylemez címkét.

PreservCyt minta-előkészítés

A PreservCyt Solution (PC) oldatban tartott, a CIntec *PLUS* Cytology Kit készlet használatával immuncitokémiai festésre váró citológiai minták 6 hétig tárolhatók 15–30 °C-on, majd további 12 hétig 2–8 °C-on hűtve.

ThinPrep Arcless Microscope tárgylemezek vagy Superfrost Plus tárgylemezek szükségesek a CIntec *PLUS* Cytology Kit készlettel BenchMark IHC/ISH berendezéseken végzett immuncitokémiai festéshez.

Slide Preparation a PreservCyt tápközegbe gyűjtött mintákból, a ThinPrep 2000 Processor segítségével

A tárgylemezeket az egészségügyi szakember által a PreservCyt tápközegbe gyűjtött mintákból készítették elő, a ThinPrep 2000 Processor segítségével. Miután a ThinPrep 2000 Processor szekvencia befejeződött, a feldolgozott tárgylemez $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldatot tartalmazó fixáló ampullában ázik. Távolítsa el az ampullát a ThinPrep 2000 Processor fixálószeres fűrdőjének tartójából, és helyezze át a feldolgozott tárgylemezt az ampullából egy $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldattal megtöltött tárolóedénybe. Inkubálja a tárgylemez(ek)e)t etanolban legalább 15 percig, de legfeljebb 60 percig. Minden 20 előkészített tárgylemez után cserélje le az etanolos oldatot a fixáló ampullában és tárgylemeztartóban. Az inkubációs idő letelte után távolítsa el a tárgylemez(ek)e)t az etanolos oldatból, és lapos felületre vízszintesen lefektetve legalább 60 percen át szárítsa az(oka)t. A megszáritott tárgylemezeket fénytől védve, $15\text{--}30^\circ\text{C}$ közötti hőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell festeni a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel.

Slide Preparation a PreservCyt tápközegbe gyűjtött mintákból, a ThinPrep 5000 Processor segítségével

A tárgylemezeket az egészségügyi szakember által a PreservCyt tápközegbe gyűjtött mintákból készítették elő, a ThinPrep 5000 Processor segítségével. Miután a ThinPrep 5000 Processor szekvencia befejeződött, a feldolgozott tárgylemezeket helyezze tárgylemeztartó állványba, amit merítsen $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldatot tartalmazó fixálószeres fűrdőbe. Távolítsa el a fixálószeres fűrdőt vagy tárgylemeztartót a ThinPrep 5000 Processor berendezésből, és inkubálja a tárgylemezeket további legalább 15 percig, de legfeljebb 60 percig. Minden egyes futtatás után cserélje ki a tárgylemeztartóban az etanolos oldatot. Az inkubációs idő letelte után távolítsa el a tárgylemezeket az etanolos oldatból, és lapos felületre vízszintesen lefektetve legalább 60 percen át szárítsa azokat. A megszáritott tárgylemezeket fénytől védve, szobahőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell festeni azokat a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel.

Mielőtt elvégezné az immunocitómiai festést a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel, távolítsa el a ThinPrep 5000 Processor által használt eredeti tárgylemezcímkét.

BD SurePath minta-előkészítés

Az egészségügyi szakember által gyűjtött és a SurePath Preservative Fluid oldatban tartott, a CIntec PLUS Cytology Kit készlet használatával immunocitómiai festésre váró citológiai minták legfeljebb 4 hétig tárolhatók $15\text{--}30^\circ\text{C}$ -on, vagy 6 hónapig hűtőben, $2\text{--}10^\circ\text{C}$ -on.

BD SurePath Slide Preparation közvetlenül a Pap-tárgylemez feldolgozását követően

A Pap-festésre szolgáló tárgylemez előkészítéséhez létrehozott dúsított sejtpetlet azonnal felhasználható egy második tárgylemez előkészítésére a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel történő festésre. A „Slide Preparation” [2. opció] PrepStain™ berendezésen való használatához GYN minták esetében kövesse a gyártó javaslatát. Az újrasszuszpendálási térfogatot 0 mL-re kell módosítani a „Change Sample/Stain Parameters” menüpontban.

BD SurePath Slide Preparation konzervált sejtpetletből

A dúsított sejtpetletet konzerválhatja, ha hozzáad körülbelül 2 mL SurePath Preservative Fluid tartósító folyadékot, és kupakot helyez a mintacsövekre a tároláshoz (a részletekért lásd a gyártó utasításait). A tartósítószerez oldatban újrasszuszpendált sejtpetletek a mintagyűjtés dátumától számított legfeljebb 4 hétig tárolhatók $15\text{--}30^\circ\text{C}$ -on, vagy 6 hónapig hűtőben, $2\text{--}10^\circ\text{C}$ -on tartva. Egy tárgylemez CIntec PLUS Cytology Kit készlethez való előkészítéséhez először hagyja állni a mintát 60 percig, hogy fellemeledjen szobahőmérsékletre. Kezdje a GYN dúsítási folyamat második centrifugálási lépésével, majd haladjon tovább a fennmaradó előfeldolgozási lépésekkel a tartósított sejtpetletek újrarendelkezésére vonatkozó gyártói utasítások szerint. A „Slide Preparation” [2. opció] GYN mintákkal a PrepStain berendezésen való használatához kövesse a gyártó javaslatát.

Valamennyi fentebb felsorolt előkészítési opció esetében távolítsa el a tárgylemeztartó állványt a PrepStain berendezésből, miután befejeződött a mintaáthelyezési lépés. Fordítsa fel a tartóállványt a folyadék (felülűző) leöntéséhez. Pipettázzon 2 mL $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldatot minden egyes ülepítőkamrába, és azonnal öntse le a felülűzőt. Másodjára is öblítse le 2 mL $\geq 95\%$ -os, reagens tisztasági fokozatú etanolos oldattal, majd inkubálja 10 percig. A tartóállvány megfordításával másodszor is öntse le a folyadékot. Távolítsa el az ülepítőkamrákat a tárgylemezekről, és lapos felületre vízszintesen lefektetve legalább 60 percen át szárítsa a tárgylemezeket. A megszáritott tárgylemezeket fénytől védve, szobahőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell festeni azokat a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel.

Hagyományos kenetek használata

A hagyományos keneteket polietilén-glikol tartalmú citológiai spray fixációs reagenssel kell fixálni (pl. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) közvetlenül a mintavétel után. A spray-vel fixált, hagyományos kenetes tárgylemezeket fénytől védve, szobahőmérsékleten lehet tárolni, és az előkészítés után 7 napon belül meg kell festeni a CIntec PLUS Cytology Kit készlettel.

Nincs szükség további előfeldolgozásra a minták BenchMark IHC/ISH berendezésbe történő betöltése előtt.

FESTÉSI ELJÁRÁS

A CIntec PLUS Cytology Kit detektálókészletet a BenchMark IHC/ISH berendezéseken, VENTANA segédreagenssekkel és kiegészítőkkel való együttes használatra tervezték.

A CIntec PLUS Cytology Kit készletet a 2., 3. és 4. táblázatban feltüntetett paraméterekkel optimalizálták; a felhasználónak azonban validálnia kell az ezzel a készlettel kapott eredményeket.

Az automata eljárások paraméterei a berendezés Felhasználói útmutatójában szereplő utasításoknak megfelelően megjeleníthetők, nyomtathatók és szerkeszthetők.

2. táblázat Az előkészített ThinPrep, SurePath és a hagyományos kenetes tárgylemez esetén a BenchMark GX berendezésen ajánlott festési protokoll.

Festési eljárás	GX CIntec PLUS Cytology		
Választható opciók	Slide Preparation típusa		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Hagyományos
ThinPrep	Kiválasztva	Nincs	Nincs
SurePath	Nincs	Kiválasztva	Nincs
Egyéb	Nincs	Nincs	Kiválasztva
Cell Conditioning Opció	Nem kijelölhető	Nem kijelölhető	16 perc
Antitest inkubációs idő	16 perc	20 perc	16 perc
HQ Linker Inc idő	12 perc	16 perc	12 perc
HRP Multimer Inc idő	6 perc	8 perc	8 perc
NP Linker Inc idő	8 perc	16 perc	8 perc
AP Multimer Inc idő	8 perc	8 perc	8 perc
Hematoxylin	8 perc	8 perc	8 perc
Bluing	4 perc	4 perc	4 perc

3. táblázat Ajánlott festési protokoll az előkészített ThinPrep, SurePath és hagyományos kenetes tárgylemezeken, a BenchMark XT berendezésen.

Festési eljárás	XT CIntec PLUS Cytology		
Választható opciók	Slide Preparation típusa		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Hagyományos
ThinPrep	Kiválasztva	Nincs kiválasztva	Nincs kiválasztva
SurePath	Nincs	Kiválasztva	Nincs
Egyéb	Nincs	Nincs	Kiválasztva
Cell Conditioning Opció	Nem kijelölhető	Nem kijelölhető	16 perc
Antitest inkubációs idő	16 perc	20 perc	16 perc
HQ Linker Inc idő	12 perc	16 perc	12 perc

Festési eljárás	XT CIntec PLUS Cytology		
Választható opciók	Slide Preparation típusa		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Hagyományos
HRP Multimer Inc idő	8 perc	8 perc	8 perc
NP Linker Inc idő	8 perc	16 perc	8 perc
AP Multimer Inc idő	8 perc	8 perc	8 perc
Hematoxylin	8 perc	8 perc	8 perc
Bluing	4 perc	4 perc	4 perc

4. táblázat Ajánlott festési protokoll az előkészített ThinPrep, SurePath és a hagyományos kenetes tárgylemez esetén a BenchMark ULTRA vagy a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen.

Festési eljárás	U CIntec PLUS Cytology		
Választható opciók	Slide Preparation típusa		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Hagyományos
ThinPrep	Kiválasztva	Nincs kiválasztva	Nincs kiválasztva
SurePath	Nincs kiválasztva	Kiválasztva	Nincs kiválasztva
Egyéb	Nincs kiválasztva	Nincs	Kiválasztva
Cell Conditioning Opció	Nem kijelölhető	Nem kijelölhető	16 perc
Antitest inkubációs idő	16 perc	16 perc	16 perc
HQ Linker Inc idő	12 perc	16 perc	12 perc
HRP Multimer Inc idő	8 perc	8 perc	8 perc
NP Linker Inc idő	8 perc	16 perc	8 perc
AP Multimer Inc idő	8 perc	8 perc	8 perc
Hematoxylin	8 perc	8 perc	8 perc
Bluing	4 perc	4 perc	4 perc

UTÓFELDOLGOZÁSI ELJÁRÁS – RÖGZÍTÉS ÉS A FEDŐLEMEZ FELHELYEZÉSE

Az optimális szennyeződés fenntartása és a kromogének elhalványodásának megelőzése érdekében egy kétlépéses rögzítési eljárásra van szükség.

Távolítsa el a tárgylemezeket a BenchMark IHC/ISH berendezésből, és finoman mozgassa át a tárgylemezeket csapvízzel, ioncserélt vagy desztillált vízzel és enyhén mosogatószerrel, amíg teljesen el nem távolította az LCS maradványait a tárgylemezekről.

MEGJEGYZÉS: Ne hagyja, hogy a víz közvetlenül a tárgylemezek tetejére folyjon. Csak minimális erejű vízugarat folyasson.

A tárgylemezeket egy kétlépéses protokollt követve kell rögzíteni, és az alábbi egymás utáni lépéseket kell elvégezni:

Vizes alapú rögzítés:

1. A metszeteket desztillált vagy ioncserélt vízben legalább 1 percen át inkubálja.
2. Amíg felhelyezi a többi tárgylemezre a CC/Mount vizes alapú rögzítő közeget, a tárgylemezfedő nélküli tárgylemezek maradjanak desztillált vagy ioncserélt vízben.

3. Távolítsa el egyetlen tárgylemezt a desztillált vagy ioncserélt vízből, és óvatosan törölje meg a tárgylemez hátoldalát egy papírtörlővel, hogy eltávolítsa róla a fölös vizet. Ne szárítsa vagy törölje meg a tárgylemez elülső (minta felőli) oldalát.
4. Tartsa a tárgylemezt enyhén megdöntve, és cseppentsen tárgylemezenként 4–6 csepp CC/Mount vizes alapú rögzítő közeget a ThinPrep vagy SurePath tárgylemezekre, illetve 8 cseppet a hagyományos kenetes tárgylemezekre. Ügyeljen rá, hogy ne képződjene légbuborékok. A légbuborék-képződés megelőzése érdekében az első csepp CC/Mount rögzítőanyagot papírtörlőre is cseppentheti, mielőtt felvinné a kellő mennyiséget a tárgylemez minta-előkészítési területére.
5. A rögzítő közeg vékony rétegének létrehozása és a minta teljes lefedése érdekében óvatosan billentse meg és forgassa el az üvegmetszetet (még ne használjon üveg vagy film fedőlemezt); a rögzítőközeg metszeten való eloszlását szemrevételezéssel ellenőrizze.
6. Távolítsa el a felesleges CC/Mount vizes alapú rögzítőközeget a tárgylemez hátuljáról és éleiről. Szükség esetén használjon nedves papírtörlőt.
7. A szárításhoz vízszintesen helyezze el az előkészített tárgylemezeket.
 - Inkubálja az előkészített ThinPrep vagy SurePath tárgylemezeket 1 órán át 37–60 °C-on, vagy egész éjjel szobahőmérsékleten.
 - Inkubálja a hagyományos kenetes tárgylemezeket 4 órán át 37 °C-on, 1 órán át 60 °C-on, vagy egész éjjel szobahőmérsékleten.

Üveg vagy film fedőlemez felhelyezése:

1. A CC/Mount vizes alapú rögzítőanyag teljes megszáradása után szükség esetén hagyja, hogy a tárgylemezek szobahőmérsékletűre hűljenek. Inkubálja tárgylemezeket xilolban legalább 1 percig, de legfeljebb 20 percig. Ezt követően xilén alapú rögzítő közeg, vagy xilén alapú filmbevonatos módszer használatával helyezze fel a metszetekre az üveg fedőlemezeket.

MEGJEGYZÉS: A tárgylemezek nem dehidratálhatók felszálló alkohollal az üveg vagy film fedőlemezre való lefedés előtt.

2. Várja meg, amíg a xilén alapú rögzítő közeg szobahőmérsékleten megszárad.

MEGJEGYZÉS: Az elhalványodás megelőzése érdekében óvja a tárgylemezeket a fénytől, és tárolja azokat szobahőmérsékleten.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

A méhnyaki citológiai minta fixációjával és további feldolgozásával kapcsolatos ajánlott eljárásoktól való eltérés az eredmények lényeges módosulását eredményezheti. A termék kezelési problémákból vagy instabilitásból adódó hibás működése nem mutatkozik meg egyértelmű jelek formájában. Ezért szükséges a megfelelő kontrollok a betegmintákkal való egyidejű futtatása.

Pozitív kontroll

Olyan mintákat használjon fel pozitív kontroll során, amelyek a betegek mintáival azonos módon kerültek feldolgozásra. A pozitív kontroll jelzi, hogy a minta előkészítése és a festési eljárás megfelelően lett-e elvégezve. Minden egyes festés során egy pozitív kontrollt kell elvégezni.

Az ismert pozitív kontrollokat csak a feldolgozott szövetek és vizsgálati reagensek megfelelő teljesítményének követésére használhatják, és nem a páciensminták specifikus diagnózisainak meghatározásához. Ha a pozitív kontrollok nem mutatnak kellően pozitív festést, a vizsgálati minták eredményeit érvénytelennek kell tekinteni.

Negative Control

A reprezentatív méhnyakcitológiai mintákban jelenlévő különböző sejttípusok, amelyekről ismert, hogy nem expresszálják a p16^{INK4a} és Ki-67 antigéneket (például a felszíni sejtek), belső negatív kontrollként szolgálhatnak a háttérfestődés megállapításában.

A vizsgálat ellenőrzése

Mielőtt használni kezdené azt egy diagnosztikai eljárásban, a felhasználónak hitelesítenie kell a CIntec PLUS Cytology Kit készlet teljesítményét ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező pozitív és negatív vizsgálati mintákon.

A FESTŐDÉS ÉRTELMEZÉSE/VÁRHATÓ EREDMÉNYEK

A CIntec PLUS Cytology Kit festés két eltérő színű reakcióterméket eredményez: barna csapadékot a p16^{INK4a} antigénhelyeken és piros csapadékot a Ki-67 antigénhelyeken. A sejtek barna festődése (citoplazma és/vagy sejtmagok) a p16^{INK4a} túlzott kifejeződésére utal. A sejtek Red festődése (sejtmagok) a Ki-67 expresszióját jelzi. A mindkét antigénre megfestett sejtek barna citoplazmatikus festődést mutatnak, jellemzően hangsúlyosan piros sejtmaggal. Az eredmények értelmezése előtt egy immuncitokémiai eljárásokban

tapasztalt és a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel festett metszetek értékelésében jártas, képzett patológusnak vagy citotechnológusnak kell értékelnie a kontrollokat.

A teszt eredményeit kizárólag képzett szakember értékelheti ki, figyelembe véve a beteg kórtörténetét és a további elvégzett diagnosztikai tesztek eredményeit.

A CINtec PLUS Cytology Kit készlettel megfestett méhnyakcitológiai tárgylemezek értékelésekor az olyan méhnyakhámsejtek jelenlétét kell vizsgálni, amelyek a p16^{INK4a} és a Ki-67 egyidejű expresszióját jelző barna citoplazmatikus és piros sejtmagfestődést is mutatnak. Ezenkívül a Pap-citológia eredményeinek közléséhez hasonlóan értékelni kell a minták megfelelését a Bethesda Guidelines 2015 (vagy a TBS)²⁸ szerint a CINtec PLUS Cytology Kit teszteredmények közlésekor.

Pozitív teszteredmények

Egy vagy több olyan méhnyakhámsejt jelenléte, amely a citoplazma specifikus barna immunfestődését és a sejtmag specifikus piros immunfestődését is mutatja ugyanazon sejten belül, a sejtmorfológiai tulajdonságoktól függetlenül pozitív CINtec PLUS Cytology Kit vizsgálati eredménynek tekintendő.

Negatív teszteredmények

Amennyiben nincs olyan méhnyakhámsejt, amelynek egyidejűleg fennáll a citoplazma barna immunfestődése és a sejtmag piros immunfestődése, a CINtec PLUS Cytology Kit vizsgálat eredménye negatívnak tekintendő.

Az olyan méhnyakhámsejtek jelenléte, amelyek csak az egyik markerre mutatnak immunreaktivitást (például csak barna festődés a p16^{INK4a} fehérje esetében vagy csak piros festődés a Ki-67 fehérje esetében), nem tekinthető pozitív teszteredménynek a CINtec PLUS Cytology Kit használatakor.

SPECIFIKUS KORLÁTOZÁSOK

1. Kizárólag szakemberek általi használatra. Az immuncitokémiai eljárások elvégzéséhez speciális képzés szükséges.
2. A CINtec PLUS Cytology Kit készlettel megfestett mikroszkópos tárgylemezek kiértékelését csak ezen teszteredmények értelmezésében jártas, képzett szakember végezheti.
3. Bármilyen pozitív vagy negatív festődés klinikai interpretációját a klinikai kontextus és a citológiai kritériumok ismeretében kell elvégezni.
4. A CINtec PLUS Cytology Kit festési eredményeinek értelmezése a hematoxilines kontrasztfestés intenzitásától és minőségétől függ. Az ajánlott reagensektől és inkubációs időktől való eltérést a felhasználónak validálnia kell, mivel a túlzott vagy nem teljes kontrasztfestés veszélyeztetheti az eredmények helyes értelmezését.
5. A méhnyaki vizsgálati minták gyakran mutatnak jól látható teljes vér szinteket. Ha a teljes vér koncentrációja meghaladja az 1.0%-ot, a tárgylemez előkészítése előtt a mintát a ThinPrep protokoll szerint jeges ecetsavval (GAA) lizálni kell.
6. A CINtec PLUS Cytology Kit készlettel megfestendő hagyományos kenetes tárgylemezeket a Superfrost Plus mikroszkópos üveg tárgylemezek és a Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), egy polietilén-glikol reagenst tartalmazó citológiai fixáló spray használatával kell előkészíteni. A felhasználónak validálnia kell az eljárást, amennyiben eltér ettől az ajánlástól.
7. A ThinPrep 3000 Processor használata nem ajánlott a ThinPrep minták előkészítéséhez, mivel a berendezés által spray-vel végzett fixálás jelentős sejtesztetéshez vezethet a tárgylemezek CINtec PLUS Cytology Kit készlettel történő előkészítése és festése során.
8. ThinPrep Arcless Microscope tárgylemezek vagy ThinPrep Microscope Slides tárgylemezek szükségesek a speciális feldolgozáshoz, vagy Superfrost Plus mikroszkópos tárgylemezek a ThinPrep minták előkészítéséhez a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel BenchMark IHC/ISH berendezéseken végzett immuncitokémiai festéshez. A vésett tesztfelülettel rendelkező ThinPrep mikroszkópos tárgylemezek ellentmondó festési eredményeket okozhatnak.
9. A gyártó ezeket az antitesteket/reagenseket az ebben a kiadványban található utasítások betartása esetén optimálisan hígított állapotban biztosítja az előkészített folyadékalapú citológiai (LBC) metszeteken végzett immuncitokémiai vizsgálatokhoz való felhasználásra. A javasolt vizsgálati eljárástól való bármilyen eltérés érvénytelenné teheti a várt eredményeket; megfelelő kontrollokat kell alkalmazni, és ezeket dokumentálni kell. Azoknak a felhasználóknak, akik eltérnek az ajánlott testelési eljárásoktól, ilyen körülmények között felelősséget kell vállalniuk a betegeredmények értékeléséért.
10. Nem minden vizsgálat van feltétlenül minden berendezésen regisztrálva. További információért vegye fel a kapcsolatot a Roche területileg illetékes képviselőjével.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

ANALITIKAI TELJESÍTMÉNY

A CINtec PLUS Cytology Kit detektálókészlet teljesítményét analitikai reprodukálhatósági és egyéb releváns vizsgálatok segítségével értékelték.

Analitikai szenzitivitás és specificitás

A p16 és Ki-67 elsődleges antitestek analitikai szenzitivitását és specificitását Western Blot és peptidinhibíciós vizsgálatok segítségével tesztelték.

A Western Blot vizsgálatok során egy sor különböző festődési intenzitást képviselő sejtvonalak lizátumait használták. Az anti-p16^{INK4a} (E6H4) antitest körülbelül 15–20 kD-os sáv detektálására volt képes a tisztított rekombináns p16^{INK4a} fehérjekészítményben. Továbbá az antitest specifikusan kötődött a tisztított rekombináns p16^{INK4a} fehérjéhez, de egyéb független rekombináns fehérje egyenértékű mennyiségéhez nem. Az antitest továbbá kötődött a HeLa, SK Mel 28 és DU145 sejtvonalakból származó lizátumokban expresszált endogén p16^{INK4a} fehérjéhez is, azonban a p16^{INK4a}-negatív MDA MB 231 sejtvonalban nem figyeltek meg kötődést. Mind a négy sejtvonalból származó lizátumokban detektált p16^{INK4a} fehérje relatív szintjei a Western Bloton megfeleltek az IHC festődési adatoknak, ami az anti-p16^{INK4a} (E6H4) antitest detektálási szenzitivitását mutatja. A Ki-67 antitest klón (274-11AC3V1) kötődését egy Western Blot vizsgálattal tesztelték L428 (a Ki-67 antigénre pozitív Hodgkin-limfóma; DSMZ ATCC 197) és LNCaP (Ki-67 fehérjét alacsony mértékben expresszáló prosztatacarcinóma sejtvonal; ATCC CRL-1740) sejtvonalakból előkészített teljes sejtes lizátumok segítségével. Az antitest még alacsony expressziós szinteknél is kimutatta az endogén Ki-67 fehérjét a sejtlizátumokban, és a sáv erőssége korrelált a Ki-67 IHC festődésével ezekben a sejtvonalakban. A CINtec PLUS Cytology Kit Ki-67 elsődleges antitest (274-11AC3V1) hozzákötődött egy tisztított, rekombináns Ki-67 fehérjefragmentumhoz, míg más, független, azonos mennyiségű rekombináns (negatív kontroll) fehérjéhez nem. Ebben a vizsgálatban nem figyeltek meg kötődést a Ki-67 fehérjét alacsony szinten expresszáló LNCaP sejtvonalban. Western Blottal ezen sejtvonalak lizátumaiból kimutatott Ki-67 fehérje relatív szintjei korreláltak az IHC festéssel kapott, valamint az mRNA expressziós adatokkal. A Western Blot eredmények szemléltetik, hogy a CINtec PLUS Cytology Kit készletben használt Ki-67 elsődleges antitest képes kimutatni az endogén Ki-67 fehérjét a sejtlizátumokban, valamint a rekombináns Ki-67 fehérjefragmentumot tisztított formában.

Peptidinhibíciós vizsgálatokban p16 vagy Ki-67 fehérjére specifikus peptideket alkalmaztak. Az elsődleges antitestektől 1:1 térfogatarányban hígították különböző koncentrációjú, p16-specifikus vagy Ki-67 peptidoldatokkal, hogy lefedjenek egy moláris értéktartományt: így a hígítási sor körülbelül 1-szeres, 10-szeres, 100-szoros, 1000-szeres, illetve 10000-szeres moláris peptidtöbbslettel rendelkezett az oldatban lévő antitest végső koncentrációjához képest. A p16 fehérjére specifikus peptidet tartalmazó elsődleges antitestektől használták az anti-Ki-67 antitest nem-specifikus kontrolljaként, és egy független Alk-a peptidet az anti-p16 antitest nem-specifikus kontrolljaként. Minden egyes oldattal megfestették az egyes minták (három méhnyaki citológiai mintapool és egy CaSki sejteket tartalmazó minta) egy tárgylemezét. E vizsgálat eredményei rávilágítottak, hogy az anti-p16 antitest specifikusan kötődik a p16 fehérjéhez, az anti-Ki-67 antitest pedig specifikusan kötődik a Ki-67 fehérjéhez. A vártan megfelelően, a p16 és Ki-67 antitestek festődési intenzitásuk az összes vizsgálati minta esetében csökkentek a megfelelő specifikus peptidekkel 1 M-os koncentrációban tartalmazó oldatokkal való festés után, és teljes inhibíciót értek el a ≥10 M-os koncentrációjú oldatokkal, míg a p16 festődési intenzitásában nem figyeltek meg semmilyen csökkenést a nemspecifikus peptidet tartalmazó vagy peptid nélküli oldatokkal való festés után.

Megismételhetőség és köztes precizitás

A ThinPrep méhnyaki minták CINtec PLUS Cytology Kit készlettel való festésére vonatkozó precizitási vizsgálatokat a következők igazolása céljából végezték:

- Összesített precizitás – Kiszámították a vizsgálatok többségével egyező eredmények százalékos arányát mind a 12 méhnyaki citológiai mintapoolra (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC pool és 3 T24 sejtvonal negatív pool), amelyeket a CINtec PLUS Cytology Kit 3 külön gyártási tételével festettek meg 5 nem egymást követő napon, poolonként 2-2 tárgylemezpeldány felhasználásával, 3 leolvasó csapat által végzett kiértékeléssel.
- Napok közötti precizitás – Kiszámították a vizsgálatok többségével egyező eredmények százalékos arányát minden napra (1. nap – 5. nap), összevonva mind a 12 méhnyaki citológiai mintapool adatait (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC pool és 3 T24 sejtvonal negatív pool), amelyeket a CINtec PLUS Cytology Kit 3 külön gyártási tételével festettek meg,

poolonként 2-2 tárgylemezpéldány felhasználásával, 3 leolvasó csapat által végzett kiértékeléssel.

- Gyártási tételek közötti precizitás – Kiszámították a vizsgálatok többségével egyező eredmények százalékos arányát minden CINtec PLUS Cytology Kit tételre (1-3-as tétel), összevonva mind a 12 méhnyaki citológiai mintapool adatait (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC pool és 3 T24 sejtvonal negatív pool), 5 nem egymást követő napon, 2 ismétléssel, 3 leolvasó csapat által végzett kiértékeléssel.

Minden tárgylemezt maszkoltak és randomizáltak, majd értékelték azokat a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel történő festés értékelését követően. A tárgylemezeket három leolvasó csapat értékelt, ezek mindegyike egy citotechnológusból és egy patológusból állt. A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos arányának meghatározásához a vizsgálatok többségét vagy a pool szintű értékelés (pozitív vagy negatív) eredményét használták referenciaként. A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya egyenértékű a PPA-val, ha a vizsgálatok többsége pozitív, és az NPA-val, ha a vizsgálatok többsége negatív. Az eredményeket az 5. táblázat, a 6. táblázat és a 7. táblázat foglalja össze. Az összes konfidenciaintervallum (CI) 2-oldalú, 95%-os konfidenciaintervallum volt. A CI értékeket a percentilis bootstrap módszer segítségével számították ki, kivéve azokban az esetekben, ahol a pontbecslés 100%-os volt; ekkor a Wilson Score módszert alkalmazták.

5. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – teljes precizitás

Pool kategória	Értékelések száma	A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya	95%-os konfidenciaintervallum
T24 sejtvonal	270	Negatív	100.0%	(98.6, 100.0)
NILM/HPV-	270	Negatív	94.1%	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Pozitív	61.1%	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Pozitív	93.3%	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Pozitív	100.0%	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Pozitív	98.9%	(96.7, 100.0)

6. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – napok közötti precizitás

Pool kategória	Értékelések száma	A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya				
			1. nap	2. nap	3. nap	4. nap	5. nap
T-24 sejtvonal	270	Negatív	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negatív	88.9%	90.7%	98.1%	98.1%	94.4%
NILM/HPV+	90	Pozitív	44.4%	50.0%	77.8%	66.7%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Pozitív	94.4%	88.9%	88.9%	94.4%	100.0%
LSIL/HPV+	90	Pozitív	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitív	100.0%	94.4%	100.0%	100.0%	100.0%

7. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – gyártási tételek közötti precizitás

Pool kategória	Értékelések száma	A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya		
			1. gyártási tétel	2. gyártási tétel	3. gyártási tétel
T24 sejtvonal	270	Negatív	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negatív	92.2%	93.3%	96.7%
NILM/HPV+	90	Pozitív	46.7%	70.0%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Pozitív	90.0%	96.7%	93.3%
LSIL/HPV+	90	Pozitív	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitív	100.0%	100.0%	96.7%

Leolvasói precizitás

A leolvasók precizitásának felméréséhez három leolvasó csapat (ezek mindegyike egy citotechnológusból és egy patológusból állt) értékelt a precizitási vizsgálatok során megfestett összes tárgylemezt, többek között 12 méhnyaki citológiai mintapool adatait (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC pool és 3 T24 sejtvonal negatív pool), poolonként 2-2 tárgylemezpéldány felhasználásával, amelyeket 3 CINtec PLUS Cytology Kit gyártási tétellel, 5 nem egymást követő napon festettek meg. A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos arányát a leolvasó csapatok közötti összevont eredményekből számolták ki. A kapott értékeket a 8. táblázat foglalja össze.

8. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – Leolvasók közötti precizitás

Pool kategória	Értékelések száma	A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya		
			1. leolvasó csapat	2. leolvasó csapat	3. leolvasó csapat
T-24 sejtvonal	270	Negatív	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negatív	95.6%	91.1%	95.6%
NILM/HPV+	90	Pozitív	70.0%	63.3%	50.0%
ASC-US/HPV+	90	Pozitív	100.0%	90.0%	90.0%
LSIL/HPV+	90	Pozitív	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitív	98.9%	98.9%	98.9%

Reprodukálhatóság

A CINtec PLUS Cytology Kit készletre vonatkozó reprodukálhatósági vizsgálatokat a következők igazolása céljából végezték:

- Az eredmények CINtec PLUS Cytology Kit gyártási tételek közötti reprodukálhatósága (9. táblázat).
- Egy futtatáson belüli (10. táblázat) és futtatások közötti (11. táblázat) reprodukálhatóság a BenchMark GX, XT és ULTRA berendezéseken.

- Platformon belüli reprodukálhatóság a BenchMark GX, XT és ULTRA berendezéseken (12. táblázat).
- Platformok közötti reprodukálhatóság a BenchMark GX, XT és ULTRA berendezéseken (13. táblázat).

9. táblázat Az eredmények CINtec PLUS Cytology Kit gyártási tételek közötti reprodukálhatósága.

Mintatípus	Összesített százalékos egyezés
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

10. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények egy futtatáson belüli reprodukálhatósága.

Mintatípus	Összesített százalékos egyezés		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

11. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények futtatások közötti reprodukálhatósága.

Mintatípus	Összesített százalékos egyezés		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

12. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit eredmények egy platformon belüli reprodukálhatósága.

Mintatípus	Összesített százalékos egyezés		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

13. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit platformok közötti reprodukálhatósága.

Mintatípus	Összesített százalékos egyezés
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

E tanulmányokat elvégezték mind a ThinPrep, mind a SurePath méhnyaki vizsgálati mintákon. Az összes vizsgálat megfelelt az előre meghatározott elfogadhatósági kritériumoknak.

Egyezési vizsgálatok

A BenchMark GX, XT és ULTRA berendezéseken használható CINtec PLUS Cytology Kit teljesítményét a CINtec PLUS Kit (referenciaeszköz, Roche mtm laboratories AG, Mannheim) eszközzel összehasonlítva értékelték, amely előzetesen nagyfokú szenzitivitást és specifikitást mutatott a rákmegelőző állapotok és a daganatos betegségek kimutatásában méhnyakcitológiai mintákban a p16^{INK4a} és Ki-67 fehérjékre pozitív kettős festési eredményt mutató egyedi méhnyakhámsejtek azonosításával.^{7-15,18,20,23,25-28}

Egyezési vizsgálatokat végeztek a célpopulációból származó betegminták felhasználásával, amelyek Pap-citológiai vizsgálata NILM (intraepiteliális lézióra és malignitásra negatív), ASC-US, LSIL vagy HSIL eredményt mutatott minden méhnyakcitológia-készítési eljárással: ThinPrep, BD SurePath és hagyományos kenetes tárgylemezek. LBC minták esetében minden betegmintából két tárgylemezt készítettek. Hagyományos kenetes két tárgylemezt készítettek elő ugyanazon beteg egyazon vizíte során, és két tárgylemez között megosztották a vett mintát („split sample” technika). Egy tárgylemezt a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel teszteltek egy

BenchMark IHC/ISH berendezésen, egy másikat pedig a referenciaeszközzel festettek meg.

Leolvasási algoritmus az LBC vizsgálati mintákhoz:

Minden egyes tárgylemezt két szakképzett leolvasó értékelt. Ha megegyezett az eredményről a véleményük, azt tekintették az adott tárgylemezre vonatkozó végeredménynek. Ha nem egyezett meg az eredményről a véleményük, egy harmadik leolvasó végzett döntő értékelést, és a többségi eredményt tekintették az adott tárgylemezre vonatkozó végeredménynek.

Leolvasási algoritmus a hagyományos kenetes tárgylemezekhez:

Minden egyes tárgylemezt két szakképzett leolvasó értékelt. Ha mindkét leolvasó pozitívként értékelte a tárgylemezt, pozitív lett az adott tárgylemezre vonatkozó végeredmény. Ha nem egyezett meg az eredményről a véleményük, a tárgylemezt három leolvasó alkotta szakértői panel áttekintette egy konszenzus eredmény létrehozása érdekében, és ennek kimenetele lett az adott tárgylemezre vonatkozó végeredmény. Ha mindkét leolvasó negatívként értékelte a tárgylemezt, az adott tárgylemezt egy harmadik leolvasó is értékelt, hogy megerősítse a negatív eredményt. Ha a harmadik leolvasó megerősítette a negatív eredményt, akkor negatív lett az adott tárgylemezre vonatkozó végeredmény. Ha a harmadik leolvasó pozitívként értékelte a tárgylemezt, három leolvasó alkotta szakértői panel áttekintette azt egy konszenzus eredmény létrehozása érdekében, és ennek kimenetele lett az adott tárgylemezre vonatkozó végeredmény.

A teszteredmények egyezését pozitív százalékos egyezésként (PPA) és negatív százalékos egyezésként (NPA) jelentik, $\pm$ a 95%-os konfidenciaintervallum (CI) a BenchMark IHC/ISH berendezésen használatos CINtec PLUS Cytology Kit és a referenciaeszköz között.

14. táblázat A ThinPrep méhnyakcitológiai tárgylemez-készítmények teszteredményeinek egyezése a CINtec PLUS Cytology Kit és a referenciaeszköz között.

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

15. táblázat A SurePath méhnyakcitológiai tárgylemez-készítmények teszteredményeinek egyezése a CINtec PLUS Cytology Kit és a referenciaeszköz között.

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

16. táblázat A hagyományos kenetes méhnyakcitológia tárgylemez-készítmények teszteredményeinek egyezése a CINtec PLUS Cytology Kit és a referenciaeszköz között.

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

Roche Cell Collection Medium tápközeget vizsgáló tanulmány

A Roche Cell Collection Medium a PreservCyt oldathoz képest mutatott teljesítményét úgy mérték fel, hogy megfestettek 616 pár méhnyakmintát (eset) a CINtec PLUS Cytology Kit segítségével. Minden esetben egy tárgylemezt készítettek a megfelelő PC vagy RCCM ampullákból. Az összes tárgylemezt egy citotechnológusból és egy patológusból álló csapat olvasta le, akik előtt maszkolták a tárgylemezek azonosítóját. A PC és a RCCM tápközegek összehasonlításával kapott CINtec PLUS Cytology Kit teszteredmények összefoglalása a 17. táblázat található. A pozitív arányokat úgy számolták ki, hogy mindkét tápközeget esetében elosztották a pozitív esetek számát az adekvát esetek összesített számával. Az eredmények 2.4%-os különbséget mutattak a két pozitívítási arány között (1.5, 6.3).

17. táblázat A Roche Cell Collection Medium (RCCM) és a PreservCyt (PC) pozitívítási arányainak egyenértékűsége a CINtec PLUS Cytology Kit esetén.

CINtec PLUS Cytology Kit eredmény RCCM esetén	CINtec PLUS Cytology Kit eredmény PC esetén		
	Pozitív	Negatív	Összesen
Pozitív	170	48	218
Negatív	37	204	241
Összesen	207	252	459
RCCM pozitívítási arány, n/N (%):	218/459 (47.5%)		
PC pozitívítási arány, n/N (%):	207/459 (45.1%)		
A pozitívítási ráták közötti különbség, n/N (%):	11/459 (2.4%; 95% CI: -1.5, 6.3)		

A cellularitás megfelelőségét vizsgáló, PreservCyt és Roche Cell Collection Medium tápközegek összehasonlításával kapott CINtec PLUS Cytology Kit eredményeket a 18. táblázat összesíti. A megfelelő cellularitási arányokat úgy számolták ki, hogy mindkét tápközeget esetében elosztották a megfelelő cellularitási esetek számát az esetek összesített számával. Az eredmények 3.2%-os különbséget mutattak a két megfelelő cellularitási arány között (-0.0, 6.6).

18. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit cellularitási megfelelőségének összehasonlítása a Roche Cell Collection Medium (RCCM) és a PreservCyt (PC) esetén.

A CINtec PLUS Cytology Kit cellularitási megfelelősége RCCM esetén	A CINtec PLUS Cytology Kit cellularitási megfelelősége PC esetén		
	Igen	Nem	Összesen
Igen	468	63	531
Nem	43	42	85
Összesen	511	105	616
RCCM megfelelőségi arány, n/N (%):	531/616 (86.2%)		
PC megfelelőségi arány, n/N (%):	511/616 (83.0%)		
A megfelelőségi ráták közötti különbség, n/N (%):	20/616 (3.2%; 95% CI: -0.0, 6.6)		

Laboratóriumok közötti reprodukálhatósági vizsgálat a BenchMark ULTRA PLUS festési platformon

A CINtec PLUS Cytology teszt értékelésére reprodukálhatósági vizsgálatot végeztek a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen a p16^{INK4a} és Ki-67 kettős immuncitokémiai kimutatására citológiai mintákban. A vizsgálatban 2 különböző T24-sejtkultúrát és 10 betegből származó minta pool-t (2 HSIL/HPV+, 2 LSIL/HPV+, 2 ASC-US/HPV+, 2

NILM/HPV+ és 2 NILM/HPV- LBC pool-t) vizsgáltak. A T24 sejtkultúrákat egyetlen működő sejtkultúrából állították elő. A 3 vizsgálóhely mindegyikének rendelkezésére bocsátottak alikvotokat az egyes minta pool-okból, a T24-sejtkultúrából és egy kontroll pool-ból, amely elegendő mennyiséget tartalmazott az egyes vizsgálóhelyeken tervezett vizsgálatokhoz. Az öt festési nap mindegyikén a vizsgálóhelyek egy-egy teszt tárgylemezt készítettek a RTD által biztosított alikvotokból egy ThinPrep 2000 vagy ThinPrep 5000 tárgylemez-feldolgozó segítségével. A tárgylemez-előkészítést követően minden vizsgálóhelyen egy 13 tárgylemezből álló sorozatot festettek meg az BenchMark ULTRA PLUS berendezésen. Az 5 festési nap nem egymást követő, hanem legalább 20 napot felölő napok voltak. Mindegyik vizsgálóhelyen 2 leolvasó csapat (amelyek egy-egy citotechnológusból és patológusból álltak) egymástól függetlenül értékelték a vizsgálóhelyen megfestett tárgylemezeket a kettős festés jelenléte vagy hiánya szempontjából, és a tárgylemezt CINtec PLUS Cytology pozitív, negatív vagy nem megfelelő teszteredménnyel értékelte. A leolvasó csapatok nem ismerték a HPV-státuszt, a Pap-citológiai státuszt, a CINtec PLUS Cytology teszteredményeket vagy az egyéb klinikai információkat.

Az adatokat közvetlenül egy klinikai adatbázisban rögzítették, és elemezték, hogy meghatározzák a vizsgálat reprodukálhatóságát több vizsgálóhely, nap és több leolvasó csapat esetén. A háttér és a sejtek elfogadhatósági aránya minden esetben 100% volt mindegyik berendezés esetében. Az eredményeket a 19. táblázat és 20. táblázat foglalja össze.

19. táblázat Laboratóriumok közötti reprodukálhatósági vizsgálat a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen – Vizsgálóhelyek közötti reprodukálhatóság

Pool kategória	Értékelések száma	A CINtec PLUS Cytology eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya		
			A vizsgálo hely	B vizsgálo hely	C vizsgálo hely
T24 sejtvonal	60	Negatív	95.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	60	Negatív	100.0%	95.0%	100.0%
NILM/HPV+	60	Pozitív	90.0%	80.0%	95.0%
ASC-US/HPV+	60	Pozitív	100.0%	95.0%	100.0%
LSIL/HPV+	60	Pozitív	100.0%	95.0%	100.0%
HSIL/HPV+	60	Pozitív	100.0%	100.0%	100.0%

20. táblázat Laboratóriumok közötti reprodukálhatósági vizsgálat a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen – Teljes precizitás

Pool kategória	A CINtec PLUS Cytology eredmények módja (a vizsgálatok többsége)	A vizsgálatok többségével megegyező eredmények százalékos aránya	n/N	95%-os konfidenciaintervallum
T24 sejtvonal	Negatív	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Negatív	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Pozitív	88.3%	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Pozitív	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Pozitív	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Pozitív	100.0%	60/60	(94.0, 100.0)

Konkordancia a BenchMark ULTRA PLUS és a BenchMark ULTRA berendezések között (ThinPrep minták)

Három laboratórium vett részt egy, a BenchMark ULTRA PLUS és a BenchMark ULTRA berendezést értékelő konkordancia vizsgálatban. Ebben a vizsgálatban 220 pool, azonosítatlan Roche Tissue Diagnostics (RTD) által készített ThinPrep LBC méhnyakmintát vizsgáltak a következő kategóriákban: 88 pozitív pool, 22 határesetben pozitív pool, 22 negatív köztes pool és 88 negatív T24 sejtenyészett pool. Minden mintáról 4 tárgylemez-sorozatot készítettek az RTD-n a ThinPrep 2000 vagy ThinPrep 5000 tárgylemez-feldolgozó segítségével. Minden sorozatból az első előkészített tárgylemezt BenchMark ULTRA berendezés segítségével RTD-n festettek meg. A fennmaradó 3 tárgylemezből minden vizsgálóhelynek biztosítottak egyet a BenchMark ULTRA PLUS berendezésben végzett CINtec PLUS Cytology tesztel történő festés céljából. Az RTD-n festett BenchMark ULTRA tárgylemezen egy RTD leolvasó csapat (amely egy citotechnológusból és patológusból állt) értékelte a kettős festés jelenlétét vagy hiányát, és a referenciapontszám megállapítása érdekében pozitív, negatív vagy nem megfelelő teszteredménnyel értékelte. Mindegyik vizsgálóhelyen egy vizsgálati leolvasó csoport egymástól függetlenül értékelte a BenchMark ULTRA berendezésben festett tárgylemezeket a CINtec PLUS Cytology vizsgálati eredményhez. Az egyes vizsgálóhelyeken a BenchMark ULTRA PLUS berendezésben festett tárgylemezeket az adott vizsgálóhely leolvasó csoportja értékelte a CINtec PLUS Cytology vizsgálati eredményhez. Ezért az egyes vizsgálóhelyi leolvasó csapatok minden egyes minta esetében egy BenchMark ULTRA és egy BenchMark ULTRA PLUS festett tárgylemezt értékeltek. A BenchMark ULTRA és BenchMark ULTRA PLUS festett tárgylemezek leolvasását két hét kimosási időszak választotta el egymástól. A leolvasó csapatok nem ismerték a HPV-státuszt, a Pap-citológiai státuszt, a CINtec PLUS Cytology teszteredményeket vagy az egyéb klinikai információkat.

A CINtec PLUS Cytology vizsgálat teljesítményegyenértékűségét a BenchMark ULTRA PLUS berendezésben akkor tekintették elfogadhatónak, ha a PPA és NPA arányok kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumának alsó határa legalább 85% volt. A CINtec PLUS Cytology tesztel a BenchMark ULTRA PLUS berendezésben festett tárgylemezeken a háttér és a sejtek elfogadhatósági arányának az összes vizsgált tárgylemez $\geq 90\%$ -ánál kellett elfogadhatónak lennie ahhoz, hogy a vizsgálatot el lehessen fogadni. A háttér és a sejtek elfogadhatósági aránya az összes vizsgált tárgylemez esetében 99.7%, illetve 99.4% volt. 21. táblázat az alábbiakban összefoglalja a CINtec PLUS Cytology státuszának BenchMark ULTRA és BenchMark ULTRA PLUS berendezések közötti egyezési arányát.

21. táblázat A BenchMark ULTRA és BenchMark ULTRA PLUS berendezések konkordancia vizsgálata – A CINtec PLUS Cytology összesített egyezési státusza az egyes platformokon (ThinPrep)

CINtec PLUS Cytology státusz						
BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA		Egyezés			
	Pozitív	Negatív	Összesen	Arány	% (n/N)	95%-os CI
Pozitív	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)
Negatív	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Összesen	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Megjegyzés: Az összesített egyezési arányok az összes mintát és leolvasó csoportot egyesítik az ULTRA PLUS berendezés esetében.

Megjegyzés: PPA = pozitív százalékos egyezés; NPA = negatív százalékos egyezés, OPA = összesített százalékos egyezés.

Laboratóriumon belüli reprodukálhatósági vizsgálat a BenchMark ULTRA PLUS festési platformon

Laboratóriumon belüli reprodukálhatósági vizsgálatot végeztek a CINtec PLUS Cytology teszt laboratóriumon belüli megismételhetőségének, a napközi köztes pontosságának és a berendezések közötti köztes precizitásának SurePath mintákon végzett értékelésére. A vizsgálatban 2 különböző T24-sejtkultúrát és 9 betegből származó SurePath minta pool-t (3 CINtec Positive/HPV+, 3 Borderline és 3 CINtec negative/HPV-) vizsgáltak. A vizsgált

tárgylemezeket a BD Totalys tárgylemez-előkészítő eszközzel készítették elő mind az öt festési napon, amelyek nem egymást követő, legalább 20 napot felölelő napok voltak. Három BenchMark ULTRA PLUS berendezést használtak a berendezések közötti reprodukálhatóság értékeléséhez. A vizsgált tárgylemezeket egy citotechnológusból és egy CINtec PLUS citológia értékelésére kiképzett patológusból álló leolvasó csoport értékelte. A vizsgált tárgylemezek konkordanciáját a tárgylemezek CINtec PLUS Cytology státuszának és a pool-szintű módnak (PLM) az összehasonlításával határozták meg, amely a leggyakoribb státuszeredmény egy pool összes kiértékelése között, amely összesíti az adott pool összes berendezésre, napra és ismétlésre vonatkozó adatait. A háttér és a sejtek elfogadhatósági aránya az összes vizsgált tárgylemez esetében 99.4%, illetve 99.7% volt. Az eredményeket az alábbi 22. táblázat, 23. táblázat, 24. táblázat és 25. táblázat foglalja össze.

22. táblázat Laboratóriumon belüli pontossági vizsgálat – A valós pozitív és valós negatív SurePath minták teljes pontossága

CINtec PLUS státusz	Pool-szintű modális státusz			Egyezés		
	Pozitív	Negatív	Összesen	Mérés	% (n/N)	95%-os CI
Pozitív	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Negatív	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Összesen	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

23. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – Napok közötti köztes precizitás

Nap	PLM-mel megegyező eredmény, n (%)	PLM-től különböző eredmény, PLM, n (%)	Összesen, n (%)
1. nap	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
2. nap	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
3. nap	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
4. nap	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
5. nap	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

24. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – Futtatáson belüli ismételhetőség

Ismétlés	PLM-mel megegyező eredmény, PLM, n (%)	PLM-től különböző eredmény, PLM, n (%)	Összesen, n (%)
1. ismétlés	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
2. ismétlés	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

25. táblázat Laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat – Berendezések közötti köztes precizitás

Berendezés	PLM-mel megegyező eredmény, PLM, n (%)	PLM-től különböző eredmény, PLM, n (%)	Összesen, n (%)
1. berendezés	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
2. berendezés	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
3. berendezés	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Konkordancia a BenchMark ULTRA PLUS és a BenchMark ULTRA festési platformok között (SurePath minták)

Belső konkordancia vizsgálatot végeztek annak igazolására, hogy a CINtec PLUS Cytology kit egyenértékű festési teljesítményt nyújt a BenchMark ULTRA és ULTRA PLUS festési platformokon a SurePath minták esetében. A vizsgálatban 88 valós pozitív, 26 határesetben pozitív, 26 negatív köztes és 88 valós negatív T24-sejtvonal-kultúrát vizsgáltak. Minden mintából két vizsgálati tárgylemezt készítettek elő a BD Totalys tárgylemez-előkészítő eszköz segítségével, amelyeket ezután CINtec PLUS Cytology festéssel festettek meg a BenchMark ULTRA vagy a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen. A vizsgált tárgylemezeket egy citotechnológusból és egy CINtec PLUS citológia értékelésére kiképzett patológusból álló leolvasó csoport értékelte. A CINtec PLUS Cytology vizsgálat teljesítményegyenértékűségét a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen akkor tekintették elfogadhatónak, ha a PPA és NPA arányok kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumának alsó határa legalább 85% volt. A CINtec PLUS Cytology tesztel a BenchMark ULTRA PLUS berendezésen festett tárgylemezek a háttér és a sejtek elfogadhatósági arányának az összes vizsgált tárgylemez $\geq 90\%$ -ánál kellett elfogadhatónak lennie ahhoz, hogy a vizsgálatot el lehessen fogadni. A háttér és a sejtek elfogadhatósági aránya az összes vizsgált tárgylemez esetében 99.6%, illetve 99.1% volt. Az eredményeket az alábbi 26. táblázat foglalja össze.

26. táblázat A BenchMark ULTRA és BenchMark ULTRA PLUS berendezések konkordancia vizsgálata (SurePath)

ULTRA PLUS státusz	ULTRA státusz			Egyezés		
	Pozitív	Negatív	Összesen	Mérés	% (n/N)	95%-os CI
Pozitív	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Negatív	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Összesen	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

KLINIKAI TELJESÍTMÉNY

Egy prospektív, multicentrikus vizsgálatot (IMPACT, Improved Primary screening And Colposcopy Triage) terveztek a CINtec PLUS Cytology Kit klinikai teljesítményének értékelésére a BenchMark ULTRA berendezésen, PreservCyt® oldatban, klinikai körülmények között levett méhnyakminták felhasználásával az előrehaladott méhnyakbetegségek azonosítására. A vizsgálatot a CINtec PLUS Cytology Kit teljesítményének értékelésére tervezték, a 25 éves vagy idősebb, a cobas® 4800 HPV Test vagy a cobas® 6800/8800 HPV Test szerint HPV-pozitív nők rutinvizsgálatára. A vizsgálat eredményei alátámasztják a CINtec PLUS Cytology Kit használatát a magas fokozatú méhnyaki intraepiteliális lézió mutató nők azonosításában a pozitív HR-HPV teszteredményű betegek körében.

A CINtec PLUS Cytology Kitaljesítményjellemzői a Pap-citológiával összehasonlítva 25–65 éves nőknél cobas® 6800/8800 HPV Test vagy cobas® 4800 HPV Test tesztekkel, pozitív eredmények

A CINtec PLUS Cytology Kit teljesítményét a Pap-citológiához képest a cobas® 6800/8800 HPV Test és a cobas® 4800 HPV Test tesztekkel pozitív nőknél a következő táblázatok mutatják be a 12 egyéb HR HPV+ populáció (27. táblázat), a HPV16+

populáció (28. táblázat) és a HPV18+ populáció (29. táblázat) esetében. A 3 genotípus-csoportban megnövekedett szenzitivitást és csökkent specifitást figyeltek meg az előrehaladott méhnyakbetegség kimutatásában a CINtec PLUS Cytology Kit készlettel a Pap-citológiához képest (27. táblázat, 28. táblázat és 29. táblázat).

Mind a cobas® 6800/8800 HPV Test, mind a cobas® 4800 HPV Test tesztel pozitív nők esetében a szenzitivitás legnagyobb növekedését (különbség = 23.1%, illetve 24.2%) és a specifitás legkisebb csökkenését (különbség = 7.9%, illetve 8.7%) a Pap-citológiához képest a 12 egyéb HR HPV+ populációkban figyelték meg (27. táblázat).

Minden esetben a CINtec PLUS Cytology Kit használata mellett jelentősen csökkent a betegség kockázata a negatív CINtec PLUS Cytology Kit eredmények mellett a NILM Pap-citológiához képest. A cobas® 6800/8800 HPV Test tesztel pozitív nők körében az 1-NPV 3.7%-kal, 6.1%-kal és 1.2%-kal alacsonyabb volt $\geq$ CIN2 esetében, és 0.9%-kal, 3.3%-kal és 0.3%-kal alacsonyabb $\geq$ CIN3 esetében a 12 egyéb HR HPV+, a HPV16+, illetve a HPV18+ populációkban. A cobas® 4800 HPV Test tesztel pozitív nők körében az 1-NPV 3.4%-kal, 9.1%-kal és 3.3%-kal alacsonyabb volt $\geq$ CIN2 esetében, és 0.8%-kal, 5.1%-kal és 0.5%-kal alacsonyabb $\geq$ CIN3 esetében a 12 egyéb HR HPV+, a HPV16+, illetve a HPV18+ populációkban.

27. táblázatA CINtec PLUS Cytology Kit teljesítménye a Pap-citológiához képest a 12 egyéb HR HPV+, 25–65 éves nők körében.

cobas® 6800/8800 system, 12 egyéb HR HPV+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	11.2 (306/2722)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, 12 egyéb HR HPV+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	10.7 (312/2906)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	3.2 (94/2906)		
Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.			

28. táblázatA CINtec PLUS Cytology Kit teljesítménye a Pap-citológiával összehasonlítva HPV16+ eredményű, 25–65 éves nők körében.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	23.8 (190/800)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	31.6 (188/594)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	19.7 (117/594)		
Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.			

29. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit teljesítménye a Pap-citológiával összehasonlítva HPV18+ eredményű, 25–65 éves nők körében.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	10.2 (37/364)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Teljesítmény Mérés	≥ CIN2 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	14.3 (32/223)		
Teljesítmény Mérés	≥ CIN3 CPR diagnózis		
	CINtec <i>PLUS</i> Cytology	Pap-citológia	Különbség
Szenzitivitás (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	6.7 (15/223)		
Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.			

Teljesítményjellemzők a cobas® 6800/8800 HPV Test vagy cobas® 4800 HPV Test populációkban, pozitív eredmények, NILM Pap-citológiai eredményű 30–65 éves nők körében

A CINtec PLUS Cytology Kit ≥ CIN2 és ≥ CIN3 kimutatására vonatkozó teljesítménye 12 egyéb HR HPV+ eredményű, NILM Pap-citológiai eredményű nők körében a 30. táblázat található.

A cobas® 6800/8800 system populációban a 12 egyéb HR HPV+ eredményű, NILM Pap-citológiai eredményű nőknél a ≥ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specifitása sorrendben 66.7%, illetve 69.7% (≥ CIN3 esetében 62.5%, illetve 67.8%) volt. Ebben a csoportban a PPV eredmények az alábbiak voltak: 13.0% (≥ CIN2) és 2.6% (≥ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CINtec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV): 3.1% volt a ≥ CIN2, és 0.8% a ≥ CIN3 esetében.

A cobas® 4800 system populációban a 12 egyéb HR HPV+ eredményű, NILM Pap-citológiai eredményű nőknél a ≥ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specifitása sorrendben 64.9%, illetve 71.0% (≥ CIN3 esetében 66.7% illetve 69.4%) volt. Ebben a csoportban a PPV eredmények az alábbiak voltak: 12.0% (≥ CIN2) és 2.5% (≥ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CINtec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV): 2.9% volt a ≥ CIN2, és 0.6% a ≥ CIN3 esetében.

30. táblázat A CINtec PLUS Cytology Kit teljesítménye a 12 egyéb HR HPV+, 30–65 éves, NILM citológiájú nők körében.

Teljesítmény mérése	cobas® 6800/8800 system, 12 egyéb HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 egyéb HR HPV+/NILM	
	≥ CIN2 CPR diagnózis	≥ CIN3 CPR diagnózis	≥ CIN2 CPR diagnózis	≥ CIN3 CPR diagnózis
Szenzitivitás (%)	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)
Specifititás (%)	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)
Gyakoriság (%)	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)
Pozitivitási arány (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	
Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; PLR = pozitív valószínűségi arány; NLR = negatív valószínűségi arány; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.				

A CINtec PLUS Cytology Kit ≥ CIN2 és ≥ CIN3 kimutatására vonatkozó teljesítménye HPV16+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nők körében a 31. táblázat található.

A cobas® 6800/8800 system populációban a HPV16+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nőknél a ≥ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specifitása sorrendben 76.3%, illetve 72.5% és ≥ CIN3-ra vonatkozóan 75.0%, illetve 70.5% volt. Ebben a csoportban a PPV eredmények az alábbiak voltak: 23.8% (≥ CIN2) és 14.8% (≥ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CINtec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV) 3.5% volt a ≥ CIN2, és 2.4% a ≥ CIN3 esetében.

A cobas® 4800 system populációban a HPV16+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nőknél a ≥ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specifitása sorrendben 80.6%, illetve 61.7% és ≥ CIN3-ra vonatkozóan 81.8%, illetve 59.0% volt. Ebben a csoportban a PPV eredmények az alábbiak voltak: 27.9% (≥ CIN2) és 17.3% (≥ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CINtec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV) 5.5% volt a ≥ CIN2, és 3.1% a ≥ CIN3 esetében.

31. táblázatA CINtec PLUS Cytology Kit teljesítménye a HPV16+, 30–65 éves, NILM citológiájú nők körében.

Teljesítmény mérése	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	≥ CIN2 CPR diagnózis	≥ CIN3 CPR diagnózis	≥ CIN2 CPR diagnózis	≥ CIN3 CPR diagnózis
Szenzitivitás (%)	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)
Specifititás (%)	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)
Gyakoriság (%)	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)
Pozitivitási arány (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	
Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; PLR = pozitív valószínűségi arány; NLR = negatív valószínűségi arány; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.				

A CIntec PLUS Cytology Kit $\geq$ CIN2 és $\geq$ CIN3 kimutatására vonatkozó teljesítménye HPV18+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nők körében a 32. táblázat található.

A cobas® 6800/8800 system populációban a HPV18+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nőknél a $\geq$ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specificitása sorrendben 75.0%, illetve 73.3% és $\geq$ CIN3 esetében 66.7%, illetve 72.1% volt. A PPV eredmények az alábbiak voltak: 9.7% ($\geq$ CIN2) és 3.2% ($\geq$ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CIntec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV) 1.3% volt $\geq$ CIN2 esetében, és 0.6% $\geq$ CIN3 esetében.

A cobas® 4800 system populációban a HPV18+ eredményű, NILM Pap-citológiájú nőknél a $\geq$ CIN2 kimutatásának szenzitivitása és specificitása sorrendben 85.7%, illetve 68.3% és $\geq$ CIN3-ra vonatkozóan 66.7%, illetve 65.7% volt. A PPV eredmények az alábbiak voltak: 15.8% ($\geq$ CIN2) és 5.3% ($\geq$ CIN3), míg a betegség kockázata a negatív CIntec PLUS Cytology Kit eredményű nőknél (1-NPV) 1.4% volt a betegség mindkét határértékére.

32. táblázat A CIntec PLUS Cytology Kit teljesítménye a HPV18+, 30–65 éves, NILM citológiájú nők körében.

Teljesítmény mérése	cobas® 6800/8800 system, HPV18+NILM		cobas® 4800 system, HPV18+NILM	
	$\geq$ CIN2 CPR diagnózis	$\geq$ CIN3 CPR diagnózis	$\geq$ CIN2 CPR diagnózis	$\geq$ CIN3 CPR diagnózis
Szenzitivitás (%)	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)
Specificitás (%)	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)
Gyakoriság (%)	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)
Pozitivitási arány (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Megjegyzés: CPR = központi patológiai értékelés; PPV = pozitív prediktív érték; NPV = negatív prediktív érték; PLR = pozitív valószínűségi arány; NLR = negatív valószínűségi arány; a zárójelben lévő számok: (n/N) és kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumok.

HIBAELHÁRÍTÁS

- Ha egy reagensadagoló nem adagol folyadékot, ellenőrizze a töltőkamrát vagy a meniszkuszt, hogy nem található-e benne idegen anyag vagy részecske, például rostszálak vagy csapadék. Ha az adagoló el van záródva, ne használja az adagolót, és forduljon az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőjéhez. Egyéb esetekben tölts fel újra az adagolót: fordítsa az adagolót egy hulladéktartály felé, vegye le a fűvókán lévő kupakot és nyomja le az adagoló tetejét.
- Esetenként megfigyelhető a CIntec PLUS Red Naphthol Phosphate adagolóból származó kristályosodás. A vizsgálatok szerint ezek a kristályok nem zavarják az eredmények értelmezését. Ha kristályok figyelhetők meg a tárgylemezekben, tisztítsa meg az adagolócső végét, és az esetleges kristályos törmelék eltávolítása érdekében tölts fel az adagolót. Ha a kristályok továbbra is jelen vannak, ne használja tovább az adagolót, hanem lépjen kapcsolatba az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőjével, és kérje az adagoló cseréjét.
- Ha a pozitív kontroll a vártnál gyengébb festődést mutat, ellenőrizze, hogy a választott protokoll megfelelő-e a konkrét mintatípushoz; például, a SurePath citológiai előkészítése hosszabb sejt kondicionálási időtartamot igényel, mint a ThinPrep tárgylemezek vagy hagyományos kenetes preparátumok. Ezenkívül ügyeljen rá, hogy egyik adagolótartályban se legyen törmelék.
- Ha a pozitív kontroll negatív, ellenőrizni kell, hogy a tárgylemezen a megfelelő vonalkód címké szerepel-e. Ha a tárgylemez megfelelően van felcímkézve, ügyeljen rá, hogy egyik adagolótartályban se legyen törmelék.
- Ha magas háttérrel figyelhető meg, csökkentse a festési protokollokban az inkubálási időket. Továbbá ellenőrizze a Reaction Buffer puffertartalmát megfelelő elkészítését.
- Ha gyenge festődés figyelhető meg, növelje a festési protokollokban az inkubálási időket. Hagyományos kenetes tárgylemezeknél a sejt kondicionálás inkubációs ideje is módosítható.
- A Ki-67 fehérje expresszióját jelző piros csapadék alkoholban oldódik. Ha a Ki-67 festődés gyenge vagy nem észlelhető, győződjön meg róla, hogy nem használtak alkoholtartalmú hematoxilint, valamint hogy pontosan követték az Utófeldolgozási eljárás – Rögzítés és tárgylemezfedő felhelyezése című fejezet instrukciói szerinti, ajánlott utófeldolgozási eljárást.

- Ha a minta lemosódik a tárgylemezről, akkor ellenőrizni kell, hogy a mintákat megfelelően, a Minták előkészítése fejezetben leírtak szerint készítették-e elő, és az ajánlott mikroszkópos tárgylemezt használták-e.
- A javító intézkedéseket a Festési eljárás című fejezetben, a berendezés Felhasználói útmutatójában találja, vagy forduljon az ügyfélszolgálat területileg illetékes képviselőjéhez.
- Ha az RCCM mintakupak helytelenül van felhelyezve, vagy a mintaampulla szivárog, cserekupakok rendelhetők (különálló, 250/tasak, REF 08037230190 vagy 8 tálcá 48/doboz, REF 06913512001).

HIVATKOZÁSOK

- 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, Scherbrink S, et al. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-9.

9. Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):652-6.
10. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(1):26-34.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(20):1550-7.
12. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Sep 15;107(12):djv257.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. 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. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(4):212-218.
18. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16^{INK4a}-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. *Am J Clin Pathol.* 2016; 145(1):35-45.
19. Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16(INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. *Pathologica.* 2015;107(3-4):185-191.
20. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. 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.

MEGJEGYZÉS: Ebben a dokumentumban mindig a pont írásjelet használjuk tizedesjelként a tizedestörtek egész és tört helyi értékeinek elválasztására. Ezres tagolást nem használunk.

A biztonságosságról és a teljesítőképességről szóló összefoglaló itt található:

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

Szimbólumok

A Ventana az alábbi szimbólumokat és jeleket használja az ISO 15223-1 szabványban felsoroltakon túl (az USA-ra vonatkozó további információkért lásd: elabdoc.roche.com/symbols).



Globális kereskedelmi áruazonosító szám

Rx only

Az USA esetében: Figyelem! A szövetségi törvények értelmében az eszköz csak orvos által vagy orvos rendelvényére értékesíthető.

ÁTDOLGOZÁSI ELŐZMÉNYEK

Átdolgozás	Frissítések
J	Sablon és címkézés frissítése. A BenchMark ULTRA PLUS hozzáadása.

SZELLEMI TULAJDONJOG

A VENTANA, a BENCHMARK, a CINTEC és a COBAS a Roche védjegyei. Minden egyéb terméknév és védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

ELÉRHETŐSÉGEK



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

www.roche.com



0123