

CINtec® PLUS Cytology Kit

REF	605-100
	06889565001
IVD	Σ 100

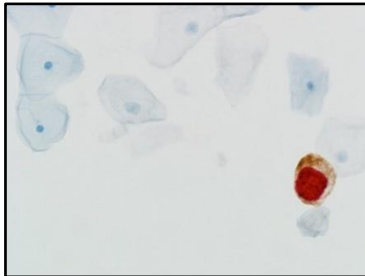


Fig. 1. Celulă epitelială cervicală pozitivă pentru p16^{INK4a} (colorare citoplasmatică maronie) și pentru Ki-67 (colorare nucleară roșie).

(leziuni intraepiteliale scuamoase de grad scăzut) sau la pacienții cu rezultate pozitive la testul HPV cu risc ridicat.

Interpretarea rezultatelor testelor poate fi efectuată numai de către un profesionist certificat, împreună cu istoricul clinic al pacientului și cu testele de diagnostic suplimentare efectuate.

Produsul este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

În celulele eucariote, controlul progresiei ciclului de diviziune celulară este reglat de un model complex de exprimare controlată și de modificări post-tranlaționale ale proteinelor de reglare a ciclului celular. Proteina p16^{INK4a} joacă un rol important în acest mecanism de reglare a ciclului celulelor eucariote. Face parte din controlul mediat de proteina retinoblastomului (pRb) al tranziției la faza G1/S și declanșează oprirea ciclului celular în cursul proceselor de diferențiere celulară. Astfel, p16^{INK4a} oferă un efect anti-proliferativ în timpul progresiei normale a ciclului celular.¹ La celulele epiteliale diferențiate terminal, p16^{INK4a} este exprimată la niveluri scăzute, de obicei nedetectate prin imunohistochimie (ICC).²

În displazia cervicală, supraexprimarea p16 este considerată un marker biologic surrogat pentru transformarea infecțiilor cu HPV, reflectând activarea proliferării celulelor determinate de oncoproteinele HPV E6/E7.^{2,3,4,5} Detecția p16 în preparatele pentru citologie cervicală a fost propusă ca un marker adjuvant valoros pentru triajul femeilor cu rezultate anormale la examenul citologic Babeș-Papanicolau, precum și cu rezultate pozitive la testul HPV.^{3,4,5} Cu toate acestea, deoarece poate fi observată colorarea specifică p16 în celulele metaplazice sau endocervicale individuale în care p16 poate fi exprimată pentru a-și exercita funcția celulară normală fiziologică, supresoare de creștere, interpretarea preparatelor de citologie cervicală cu colorare unică cu p16 necesită identificarea celulelor imunoreactive p16 și clasificarea ulterioară a acestor celule în ceea ce privește semnele anomaliilor morfologice.^{2,3,4}

Detecția simultană combinată a p16 și a markerului de proliferare Ki-67 în cadrul aceleiași celule de către ICC s-a dovedit a fi un instrument valoros pentru identificarea celulelor cervicale displazice în preparatele citologice, fără a fi nevoie de interpretare morfologică.^{3,7,8} Ki-67 este o proteină nucleară și nucleolară strict asociată cu proliferarea celulară și este nedetectabilă prin metodele standard de imunocolorație în celulele în repaus (G0).⁶ În condiții fiziologice normale, exprimarea proteinei Ki-67 asociată proliferării se exclude reciproc de cea a proteinei anti-proliferative p16. În contrast, celulele în care calea mediată de proteina retinoblastomului (pRB) care controlează progresia ciclului celular este abrogată în amonte de funcția supresoare tumorală a p16 (cum ar fi în celulele epiteliale care exprimă oncoproteinele HPV E6/E7 cu risc ridicat) pot prolifera și astfel pot exprima Ki-67 în prezența proteinei p16 funcționale.^{2,3}

Prin urmare, detecția celulelor individuale în preparatele de citologie cervicală care coexprimă simultan p16 și Ki-67 poate servi ca un indicator independent de morfologie al celulelor cu dereglare a ciclului celular. Această coexprimare a p16 și Ki-67 poate fi utilizată ca indicator al prezenței infecțiilor cu HPV în curs de transformare și a neoplaziei intraepiteliale cervicale subiacente.^{2,3} În trecutul recent, au fost efectuate și publicate numeroase studii care evaluează potențiala valoare și utilitatea clinică a citologiei cu colorație duală a p16/Ki-67 pentru identificarea femeilor care pot beneficia de trimitere către colposcopie pe baza diverselor rezultate de screening pentru cancer cervical primar. Aceste rezultate includ triajul femeilor cu Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) sau Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), femeii care sunt HPV cu risc crescut pozitiv la screeningul primar HPV sau femeii care au un rezultat Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM)/un rezultat pozitiv la HPV în mediile clinice în care cotestarea prin intermediul examenului citologic Babeș-Papanicolau/HPV este utilizată pentru screeningul primar.⁷⁻²⁵

PRINCIPIUL PROCEDURII

CINtec PLUS Cytology Kit conține un set de reactivi pentru detecția imunocitochimică simultană a proteinelor p16^{INK4a} și Ki-67 în probele citologice obținute din colul uterin. Proteinele sunt detectate utilizând un cocktail gata de utilizare de anticorpi monoclonali primari care conțin un anticorp monoclonal recombinant de șoarece orientat împotriva proteinei umane p16^{INK4a} (clona E6H4™) și un anticorp primar de iepure recombinant orientat împotriva proteinei umane Ki-67 (clona 274-11AC3V1). După condiționarea celulelor, inhibarea activității peroxidazei endogene și incubarea cu cocktailul de anticorpi primari, testul utilizează două sisteme de detecție gata de utilizare, optimizate pentru utilizarea pe probe de citologie cervicală:

- Un anticorp secundar anti-șoarece de capră atașat covalent la haptene HQ (haptene proprietară) și un anticorp terțiar conjugat cu peroxidază din hrean (HRP), cu haptene anti-HQ, optimizat pentru detecția clonei de anticorp monoclonal de șoarece E6H4;
- Un anticorp secundar anti- iepure de capră atașat covalent la haptene NP (haptene proprietară) și un anticorp terțiar conjugat cu fosfatază alcalină (AP), cu haptene anti-NP, optimizat pentru detecția clonei de anticorp recombinant de iepure 274-11AC3V1.

Reacțiile cromogene se bazează pe conversia mediată de HRP a tetraclorhidratului de 3,3'-diaminobenzidină (DAB) și pe conversia mediată de AP a Fast Red cu Naphthol Phosphate, rezultând un precipitat maroniu la locul antigenului p16^{INK4a} și, respectiv, un precipitat roșu la locul antigenului Ki-67.

După contracolorarea și albăstrirea automate, urmează o procedură de montare în doi pași. Mai întâi, lama este fixată utilizând un mediu de montare apos. Ulterior, pe lamă se aplică lamele de acoperire utilizând un mediu de montare permanent. Rezultatele de colorare sunt evaluate prin microscopie în câmp luminos.

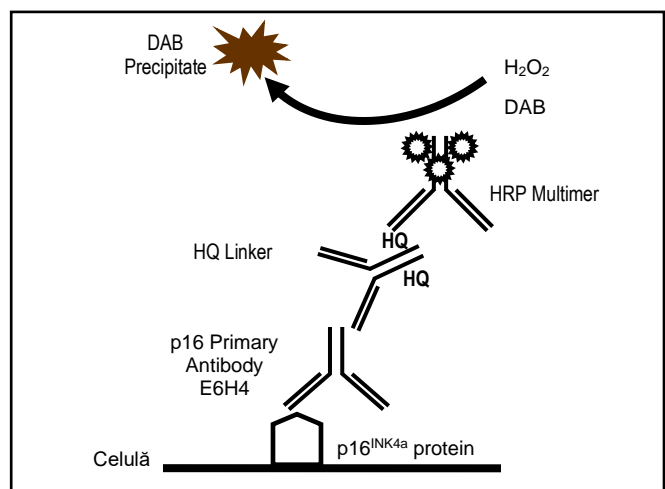


Fig. 2. Detecția proteinei umane p16^{INK4a}.

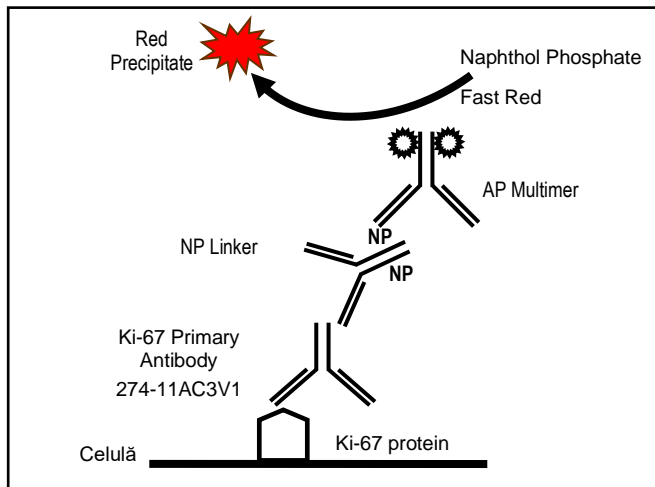


Fig. 3. Detectia proteinei umane Ki-67.

MATERIALE FURNIZATE

CINtec PLUS Cytology Kit conține reactiv suficient pentru 100 de teste.

- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) conține un cocktail de clone de anticorpi monoclonali recombinanți de șoarece E6H4 orientați către proteina umană p16^{INK4a} și clone de anticorpi primari de iepure recombinanți 274-11AC3V1 orientați către proteina umană Ki-67 (< 5 µg/mL anticorp total) într-o soluție tampon care conține proteină cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker conține IgG anti- iepure de capră marcat cu NP (< 10 µg/mL; NP este o haptenă proprietară atașată covalent la anticorpii de capră) într-o soluție tampon care conține proteină cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer conține un anticorp terțiar monoclonal de șoarece anti-NP marcat cu AP (< 20 µg/mL) într-o soluție tampon care conține proteină cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate conține Naphthol Phosphate (< 1%) cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology Fast Red conține Fast Red (< 1%) în soluție tampon pe bază de acetat cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor conține soluție de peroxid de hidrogen (< 5%).
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker conține IgG anti-șoarece de capră marcat cu HQ (< 40 µg/mL; HQ este o haptenă proprietară atașată covalent la anticorpii de capră) într-o soluție tampon care conține proteină cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer conține un anticorp terțiar HRP monoclonal de șoarece marcat anti-HQ (< 10 µg/mL) într-o soluție tampon care conține proteină cu conservant ProCin 300.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB conține tetraclorură de 3,3'-diaminobenzidină (< 1%) într-o soluție de stabilizare proprietară, cu un conservant proprietar.
- Un dozator de 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB H₂O₂ conține peroxid de hidrogen (< 1%) într-o soluție tampon pe bază de fosfat.

RECONSTITUIREA, AMESTECAREA, DILUAREA ȘI TITRAREA

Kitul CINtec PLUS Cytology Kit este optimizat pentru utilizarea pe instrumente BenchMark IHC/ISH. Nu este necesară reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea reactivilor din kit.

Abaterile de la procedurile recomandate pentru fixarea și prelucrarea ulterioară a probelor citologice cervicale pot produce variabilitate substanțială în ceea ce privește rezultatele, necesitând efectuarea regulată a controalelor interne.

Pentru mai multe informații despre controale, consultați secțiunea **Control de calitate**.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

Reactivii de colorare, cum ar fi kiturile de detecție VENTANA și componentele auxiliare, inclusiv lamele de control de țesut negativ și pozitiv, nu sunt puși la dispoziție.

Este posibil să nu fie disponibile în toate zonele geografice toate produsele menționate în fișa de descriere a metodei. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos sunt necesare pentru colorare, dar nu sunt furnizate cu kitul de detecție:

1. Controale corespunzătoare (opțional, consultați secțiunea Control de calitate)
2. Hematoxylin Counterstain (nr. cat. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (nr. cat. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr. cat. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr. cat. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (nr. cat. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr. cat. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (nr. cat. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (nr. cat. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (nr. cat. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol denaturat (puritate ≥ 95%)
12. Instrument BenchMark IHC/ISH
13. Sunt recomandate lame de microscop Superfrost Plus (Thermo Fisher Scientific) pentru frotiuri convenționale
14. Lame de microscop ThinPrep Arcless (Hologic REF. 70126-002) sau lame de microscop Superfrost Plus (VWR REF. 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (REF. 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic REF 234004)
17. Lame BD SurePath PreCoat (include în kitul ginecologic SurePath)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD REF 490522)
19. Mediu de montare apos CC/Mount (Roche REF 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Opțional: Cuptor de uscarea care poate menține o temperatură de 60 °C ± 5 °C
21. Echipament de laborator de uz general

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

La primire, și atunci când nu este în uz, a se depozita la 2–8 °C. A nu se congela. Utilizatorul trebuie să valideze orice altă condiție de depozitare decât cele specificate în fișa de descriere a metodei. Acest kit de detecție poate fi utilizat imediat după scoaterea din frigider.

Pentru a asigura administrarea corectă a reactivului și stabilitatea reactivilor, înlocuiți capacul dozatorului după fiecare utilizare și introduceți imediat dozatoarele în frigider, în poziție verticală.

Fiecare kit de detecție are marcată data expirării. Atunci când este depozitat corespunzător, produsul este stabil până la data indicată pe etichetă. Nu utilizați produsul după data expirării indicată pentru metoda de depozitare prescrisă. Nu există semne clare care să indice instabilitatea produsului; prin urmare, un control pozitiv trebuie testat simultan cu probe necunoscute. Dacă există orice indicație a instabilității reactivului, contactați imediat reprezentantul de asistență local.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea in vitro (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. A nu se depăși numărul de teste specificat.
4. Nu utilizați produsul dacă ambalajul oricăreia dintre componentele sale este deteriorat. În cazul în care ambalajul este compromis sau componentele sunt deteriorate, notificați imediat reprezentantul de asistență local.

- Soluția ProClin 300 este utilizată pe post de conservant în această soluție. Este clasificată ca iritant și poate provoca sensibilizarea prin contactul cu pielea. La utilizare, luați măsuri de precauție rezonabile. Evitați contactul reactivilor cu ochii, pielea și membranele mucoase. Utilizați îmbrăcăminte și mănuși de protecție.
- Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic potențial și eliminate luând măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{26,27}
- La utilizarea reactivilor, luați măsuri de precauție rezonabile. Evitați contactul reactivilor cu ochii, pielea și membranele mucoase. Evitați inhalarea reactivilor. Utilizați mănuși de unică folosință și îmbrăcăminte de protecție adecvată la utilizarea materialelor considerate ca fiind posibil carcinogene sau toxice.
- Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență.
- Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate duce la obținerea unor rezultate incorecte.
- Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați Ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark IHC/ISH și instrucțiunile de utilizare a tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
- Consultați autoritățile locale și/sau de stat cu privire la metoda de eliminare recomandată.
- La manipularea și eliminarea probelor citologice, inclusiv a tuturor probelor înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, respectați măsurile de siguranță pentru manipularea materialelor potențiale infecțioase, precum și cerințele aplicabile de eliminare a deșeurilor.
- Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
- Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

Acest kit de detecție include componente clasificate după cum urmează conform Regulamentului (CE) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Informații privind pericolele.

Pericol	Cod	Declarație
	H317	Poate provoca o reacție alergică a pielii.
	H350	Poate cauza cancer.
	H412	Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.
	P201	Înainte de utilizare, obțineți instrucțiuni speciale.
	P261	Evitați să inspirați ceața sau vaporii.
	P273	Evitați dispersarea în mediu.
	P280	Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței/echipament de protecție acustică.
	P308 + P313	ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul.
	P333 + P313	În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul.

Acest produs conține nr. CAS:

- 868272-85-9: tetraclorhidrat de 3,3'-diaminobenzidină
- 2682-20-4: 2-metil-2H-izotiazol-3-onă
- 55965-84-9, masă de reacție formată din: 5-cloro-2-metil-2H-izotiazol-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1)

PREGĂTIREA PROBELOR

Probele citologice trebuie manipulate în mod adecvat pentru a conserva probele în vederea efectuării procedurilor imunocitochimice. Toate probele trebuie supuse unor metode standard de prelucrare a celulei.

Pentru a evita elementele de obstrucționare, precum sângele și mucusul, și pentru a asigura faptul că o probă este adecvată conform Bethesda Guidelines²⁸, clinicienii trebuie să urmeze tehnicile de recoltare a probelor recomandate.

Următoarele metode de pregătire a lamelor sunt potrivite pentru utilizarea cu CINtec PLUS Cytology Kit:

- Lame ThinPrep (Hologic Inc.) pregătite pe ThinPrep 2000 sau 5000 Processor (Hologic Inc.) utilizând lame ThinPrep Arcless Microscope sau lame Superfrost Plus conform recomandării producătorului;
- Lame BD SurePath (BD Diagnostics) pregătite conform recomandării producătorului.
- Lame pregătite manual (lame de frotiu convențional)

Este recomandată efectuarea controalelor corespunzător simultan cu probele de pacient (consultați secțiunea Control de calitate pentru detalii suplimentare).

Pregătirea probelor din Roche Cell Collection Medium

Probele citologice recoltate de un cadru medical și resuspendate în Roche Cell Collection Medium (RCCM) destinate colorării imunocitochimice utilizând CINtec PLUS Cytology Kit pot fi depozitate la 15–30 °C timp de 6 săptămâni, urmate de 12 săptămâni suplimentare în stare refrigerată la 2–8 °C.

Sunt necesare lame ThinPrep Arcless Microscope sau lame Superfrost Plus pentru colorarea imunocitochimică cu CINtec PLUS Cytology Kit pe instrumente BenchMark IHC/ISH.

Pregătirea lamelor din probe recoltate în Roche Cell Collection Medium utilizând ThinPrep 2000 Processor

Lamele sunt pregătite din probe recoltate în Roche Cell Collection Medium utilizând ThinPrep 2000 Processor. După ce este terminată secvența ThinPrep 2000 Processor, lama prelucrată este așezată într-o fiolă de fixator care conține o soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$. Scoateți fiola din suportul de baie pentru fixator al ThinPrep 2000 Processor și transferați lama prelucrată din fiolă într-un recipient de lame umplut cu soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$. Incubați lama/lamele în etanol timp de cel puțin 15 minute și cel mult 60 de minute. Schimbați soluția de etanol din fiola de fixator și recipientul de lame după fiecare 20 de lame pregătite. La terminarea timpului de incubare, scoateți lamele din soluția de etanol și uscați lamele în poziție orizontală pe o suprafață plată, timp de cel puțin 60 de minute. Lamele uscate pot fi depozitate la temperatura camerei, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Pregătirea lamelor din probe recoltate în Roche Cell Collection Medium utilizând ThinPrep 5000 Processor

Lamele sunt pregătite din probe recoltate în Roche Cell Collection Medium utilizând ThinPrep 5000 Processor. După ce este terminată secvența ThinPrep 5000 Processor, lamele prelucrate sunt așezate într-un stativ de lame care este scufundat într-o soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$ care conține o baie de fixator. Scoateți baia de fixator sau recipientul de lame din ThinPrep 5000 Processor și incubați lamele timp de cel puțin 15 minute și cel mult 60 de minute. Schimbați soluția de etanol din recipientul de lame după fiecare testare. La terminarea timpului de incubare, scoateți lamele din soluția de etanol și uscați lamele în poziție orizontală pe o suprafață plată, timp de cel puțin 60 de minute. Lamele uscate pot fi depozitate la temperatura camerei, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Înainte de colorarea imunocitochimică cu CINtec PLUS Cytology Kit, îndepărtați eticheta originală de pe lamă utilizată de ThinPrep 5000 Processor.

Pregătirea probelor din PreservCyt

Proba citologică din PreservCyt Solution (PC) destinată colorării imunocitochimice utilizând CINtec PLUS Cytology Kit poate fi depozitată la 15–30 °C timp de 6 săptămâni, urmate de 12 săptămâni suplimentare în stare refrigerată la 2–8 °C.

Sunt necesare lame ThinPrep Arcless Microscope sau lame Superfrost Plus pentru colorarea imunocitochimică cu CINtec PLUS Cytology Kit pe instrumente BenchMark IHC/ISH.

Slide Preparation din probele recoltate în PreservCyt utilizând ThinPrep 2000 Processor

Lamele sunt pregătite din probe citologice recoltate de un cadru medical și resuspendate în PreservCyt utilizând ThinPrep 2000 Processor. După ce este terminată secvența ThinPrep 2000 Processor, lama prelucrată este așezată într-o fiolă de fixator care conține o soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$. Scoateți fiola din suportul de baie pentru fixator al ThinPrep 2000 Processor și transferați lama prelucrată din fiolă într-un recipient de

lame umplut cu soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$. Incubați lama/lamele în etanol timp de cel puțin 15 minute și cel mult 60 de minute. Schimbați soluția de etanol din fiola de fixator și recipientul de lame după fiecare 20 de lame pregătite. La terminarea timpului de incubare, scoateți lamele din soluția de etanol și uscați lamele în poziție orizontală pe o suprafață plată, timp de cel puțin 60 de minute. Lamele uscate pot fi depozitate la 15–30 °C, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Slide Preparation din probele recoltate în PreservCyt utilizând ThinPrep 5000 Processor

Lamele sunt pregătite din probe citologice recoltate de un cadru medical și resuspendate în PreservCyt utilizând ThinPrep 5000 Processor. După ce este terminată secvența ThinPrep 5000 Processor, lamele prelucrate sunt așezate într-un stativ de lame care este scufundat într-o soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$ care conține o baie de fixator. Scoateți baia de fixator sau recipientul de lame din ThinPrep 5000 Processor și incubați lamele timp de cel puțin 15 minute și cel mult 60 de minute. Schimbați soluția de etanol din recipientul de lame după fiecare testare. La terminarea timpului de incubare, scoateți lamele din soluția de etanol și uscați lamele în poziție orizontală pe o suprafață plată, timp de cel puțin 60 de minute. Lamele uscate pot fi depozitate la temperatura camerei, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Înainte de colorarea imunocitochimică cu CINtec PLUS Cytology Kit, îndepărtați eticheta originală de pe lamă utilizată de ThinPrep 5000 Processor.

Pregătirea probelor din BD SurePath

Probele citologice recoltate de un cadru medical și resuspendate în SurePath Preservative Fluid destinată colorării imunocitochimice utilizând CINtec PLUS Cytology Kit poate fi depozitată timp de până la 4 săptămâni la 15–30 °C sau pentru 6 luni în frigider la 2–10 °C.

Slide Preparation în BD SurePath imediat după prelucrarea unei lame pentru examenul citologic Babeș-Papanicolau

După ce a fost creat un fragment de celule îmbogățit pentru pregătirea unei lame de colorare pentru examenul citologic Babeș-Papanicolau, se poate utiliza imediat pentru pregătirea unei lame secundare care trebuie colorată cu CINtec PLUS Cytology Kit. Respectați recomandarea producătorului pentru utilizarea „Slide Preparation” [opțiunea 2] pentru probele ginecologice pe instrumentul PrepStain™. Volumul de resuspensie trebuie schimbat la 0 mL în opțiunea de meniu „Change Sample/Stain Parameters” (Modificare parametri de probă/colorare).

Slide Preparation în BD SurePath dintr-un fragment de celule conservat

Fragmentele de celule îmbogățite pot fi conservate adăugând aproximativ 2 mL de SurePath Preservative Fluid și punând capacul eprubetelor de probă pentru depozitare (consultați instrucțiunile producătorului pentru detalii). De la data recoltării probelor, fragmentele de celule care au fost resuspendate în lichid conservant pot fi depozitate până la 4 săptămâni la 15–30 °C sau timp de 6 luni la frigider, la 2–10 °C. Pentru a prelucra o lamă pentru CINtec PLUS Cytology Kit, mai întâi aduceți proba la temperatura camerei, timp de 60 de minute. Începeți cu a doua etapă de centrifugare a procesului de îmbogățire ginecologic și continuați cu restul pașilor de prelucrare prealabilă, așa cum este subliniat în instrucțiunile producătorului pentru prelucrarea fragmentelor de celule conservate. Respectați recomandarea producătorului pentru utilizarea „Slide Preparation” [opțiunea 2] pentru probele ginecologice pe instrumentul PrepStain.

Pentru toate opțiunile de pregătire de mai sus, scoateți stativul de lame din instrumentul PrepStain după terminarea pasului de transfer al probelor. Răsturnați stativul pentru a decanta lichidul. Pipetați 2 mL de soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$ în fiecare cameră de decantare și decantați imediat. Clătiți cu 2 mL de soluție de etanol de grad reactiv $\geq 95\%$ a doua oară și incubați timp de 10 minute. Decantați a doua oară răsturnând stativul. Îndepărtați camerele de decantare de pe lame și lăsați lamele să se usuce în poziție orizontală pe o suprafață plată, timp de cel puțin 60 de minute. Lamele uscate pot fi depozitate la temperatura camerei, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Utilizarea frotiurilor convenționale

Frotiurile convenționale trebuie fixate cu reactiv de fixare spray citologic care conține polietilenglicol (de ex. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) imediat după recoltarea probelor. Lamele de frotiu convențional fixate cu spray pot fi depozitate la temperatura camerei, protejate de lumină, și trebuie colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit în decurs de 7 zile de la pregătire.

Nu este necesară prelucrarea suplimentară în prealabil înainte de încărcarea lamelor în instrumentul BenchMark IHC/ISH.

PROCEDURA DE COLORARE

CINtec PLUS Cytology Kit a fost dezvoltat pentru a fi utilizat pe instrumentele BenchMark IHC/ISH împreună cu reactivii auxiliari și accesoriile VENTANA.

CINtec PLUS Cytology Kit a fost optimizat cu parametrii indicați în Tabelele 2, 3 și 4 și utilizatorul trebuie să valideze rezultatele obținute cu acest kit.

Parametrii pentru protocoalele automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform instrucțiunilor din Ghidul de utilizare a instrumentului.

Tab. 2. Protocol de colorare recomandat pentru lamele de frotiu pregătite ThinPrep, SurePath și lamele de frotiu convențional pe instrumentul BenchMark GX.

Procedura de colorare	GX CINtec PLUS Cytology		
	Tipul de Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convențional
ThinPrep	Selectat(ă)	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)
SurePath	Neselectat(ă)	Selectat(ă)	Neselectat(ă)
Altele	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)	Selectat(ă)
Opțiune Cell Conditioning	Neselectabil(ă)	Neselectabil(ă)	16 minute
Timp Antibody Inc	16 minute	20 minute	16 minute
Timp HQ Linker Inc	12 minute	16 minute	12 minute
Timp HRP Multimer Inc	6 minute	8 minute	8 minute
Timp NP Linker Inc	8 minute	16 minute	8 minute
Timp AP Multimer Inc	8 minute	8 minute	8 minute
Hematoxylin	8 minute	8 minute	8 minute
Bliuing	4 minute	4 minute	4 minute

Tab. 3. Protocol de colorare recomandat pentru lamele de frotiu pregătite ThinPrep, SurePath și lamele de frotiu convențional pe instrumentul BenchMark XT.

Procedura de colorare	XT CINtec PLUS Cytology		
	Tipul de Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convențional
ThinPrep	Selectat(ă)	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)
SurePath	Neselectat(ă)	Selectat(ă)	Neselectat(ă)
Altele	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)	Selectat(ă)
Opțiune Cell Conditioning	Neselectabil(ă)	Neselectabil(ă)	16 minute
Timp Antibody Inc	16 minute	20 minute	16 minute
Timp HQ Linker Inc	12 minute	16 minute	12 minute
Timp HRP Multimer Inc	8 minute	8 minute	8 minute
Timp NP Linker Inc	8 minute	16 minute	8 minute
Timp AP Multimer Inc	8 minute	8 minute	8 minute
Hematoxylin	8 minute	8 minute	8 minute
Bliuing	4 minute	4 minute	4 minute

Tab. 4. Protocol de colorare recomandat pentru lamele de frotiu ThinPrep preparat, SurePath și lamele de frotiu convențional pe instrumentul BenchMark ULTRA sau BenchMark ULTRA PLUS.

Procedura de colorare	U CINtec PLUS Cytology		
	Tipul de Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convențional
ThinPrep	Selectat(ă)	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)
SurePath	Neselectat(ă)	Selectat(ă)	Neselectat(ă)
Altele	Neselectat(ă)	Neselectat(ă)	Selectat(ă)
Opțiune Cell Conditioning	Neselectabil(ă)	Neselectabil(ă)	16 minute
Timp Antibody Inc	16 minute	16 minute	16 minute
Timp HQ Linker Inc	12 minute	16 minute	12 minute
Timp HRP Multimer Inc	8 minute	8 minute	8 minute
Timp NP Linker Inc	8 minute	16 minute	8 minute
Timp AP Multimer Inc	8 minute	8 minute	8 minute
Hematoxylin	8 minute	8 minute	8 minute
Bluing	4 minute	4 minute	4 minute

PROCEDURA DE POST-PRELUCRARE – FIXAREA ȘI APLICAREA LAMELELOR DE ACOPERIRE

Pentru a menține sensibilitatea optimă și pentru a preveni estomparea cromogenilor, este necesară o procedură de fixare în doi pași.

Scoateți lamele din instrumentul BenchMark IHC/ISH și agitați ușor și clătiți lamele cu apă deionizată sau distilată de la robinet și detergent de vase slab până când LCS este îndepărtată complet de pe lamele.

NOTĂ: Nu permiteți ca apa să curgă direct pe partea superioară a lamelor. Lăsați apa să curgă cu forță minimă.

Lamele vor fi fixate conform unui protocol în doi pași, iar următorii pași trebuie efectuați în mod secvențial:

Mediu de montare apos:

1. Incubați lamele în apă distilată sau deionizată pentru cel puțin 1 minut;
2. Lamele pe care nu se aplică lamele de acoperire trebuie să rămână în apă distilată sau deionizată în timpul aplicării mediilor de montare apoase CC/Mount pe alte lame;
3. Scoateți o lamă individuală din apă distilată sau deionizată și ștergeți cu atenție partea din spate a lamei cu un șervețel din hârtie pentru a îndepărta excesul de apă. Nu scurgeți sau nu ștergeți apa de pe partea frontală a lamei (partea cu proba);
4. Țineți lama într-un unghi înclinat și aplicați 4–6 picături de mediu de montare apos CC/Mount per lamă ThinPrep sau SurePath și 8 picături per lamă de frotiu convențional. Evitați generarea bulelor de aer. Pentru a preveni formarea de bule, prima picătură trebuie eliminată pe un șervețel din hârtie înainte de a aplica CC/Mount pe zona de pregătire a probelor de pe lamă;
5. Înclinați și rotiți ușor lama de sticlă pentru a genera un strat subțire de mediu de montare în vederea acoperirii complete a zonei de pregătire a probelor (nu aplicați încă o lamă de acoperire din sticlă sau peliculă); verificați distribuția mediului de montare pe lamă inspectând vizual;
6. Curățați mediul de montare apos CC/Mount în exces de pe spatele și de pe marginile lamei. Folosiți șervețele din hârtie ude, dacă este cazul;
7. Pentru uscare, plasați lamele pregătite în poziție orizontală
 - Incubați lamele ThinPrep sau SurePath pregătite la 37–60 °C timp de 1 oră sau, alternativ, peste noapte la temperatura camerei;
 - Incubați lame de frotiu convențional la 37 °C timp de 4 ore sau la 60 °C timp de 1 oră sau, alternativ, peste noapte la temperatura camerei

Aplicarea lamelei de acoperire din sticlă sau peliculă:

1. După uscarea completă a mediului de montare apos CC/Mount, lăsați lamele să se echilibreze la temperatura camerei, dacă este necesar. Incubați lamele în xilen timp de cel puțin 1 minut și cel mult 20 de minute. Apoi, aplicați lamele de acoperire din sticlă pe lame utilizând un mediu de montare pe bază de xilen sau o metodă de aplicare a lamelor de acoperire din peliculă pe bază de xilen.

NOTĂ: Lamele nu trebuie deshidratate prin creșterea cantității de alcool înainte de aplicarea lamelor de acoperire din sticlă sau peliculă pe acestea.

2. Lăsați mediul de montare pe bază de xilen să se usuce la temperatura camerei.

NOTĂ: Pentru a minimiza estomparea, protejați lamele de lumină și depozitați-le la temperatura camerei.

CONTROL DE CALITATE

Abaterile de la procedurile recomandate pentru fixare și prelucrarea ulterioară a probelor citologice cervicale pot produce variabilitate substanțială în ceea ce privește rezultatele. Defectarea produsului din cauza problemelor de manipulare sau a instabilității nu prezintă semne evidente. Prin urmare, trebuie efectuate controale adecvate simultan cu probele de pacient.

Control pozitiv

Probele prelucrate în același mod precum probele de la pacienți nu trebuie utilizate drept controale pozitive. Controalele pozitive indică faptul că probele au fost pregătite corect și că tehnicile de colorare au fost corespunzătoare. Un control pozitiv trebuie inclus la fiecare ciclu de colorare.

Controalele pozitive cunoscute trebuie utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor corecte ale probelor procesate și reactivilor de testare, nu ca mijloace auxiliare de determinare a unui diagnostic specific al probelor de la pacienți. Dacă controalele pozitive nu demonstrează colorarea pozitivă adecvată, rezultatele cu probele de testare trebuie considerate nevalide.

Negative Control

O varietate de tipuri de celule diferite prezente în probele citologice cervicale reprezentative și care sunt cunoscute ca fiind negative pentru exprimarea antigenelor p16^{INK4a} și Ki-67 (precum celulele superficiale) pot servi drept control negativ intern pentru a evalua colorația de fond.

Verificarea testului

Utilizatorul trebuie să verifice performanța CINtec PLUS Cytology Kit pe probe pozitive și negative cu caracteristici de performanță cunoscute anterior utilizării sale inițiale în cadrul unei proceduri de diagnostic.

INTERPRETAREA COLORĂRII/REZULTATE PRECONIZATE

Colorarea cu CINtec PLUS Cytology Kit realizează două produse de reacție colorate diferit: un precipitat maroniu la locurile antigenului p16^{INK4a} și un precipitat roșu la locurile antigenului Ki-67. Colorarea maronie a celulelor (citoplasmă și/sau nucleu) indică supraexprimarea p16^{INK4a}. Colorarea Red a celulelor (nucleelor) indică exprimarea Ki-67. Celulele colorate pentru ambele antigene prezintă colorare citoplasmatică maronie cu nucleu roșii pronunțate în mod tipic. Un patolog/citotehnolog calificat cu experiență în procedurile imunocitochimice și care a beneficiat de formare în ceea ce privește interpretarea lamelor colorate CINtec PLUS Cytology Kit trebuie să evalueze controalele înainte de interpretarea rezultatelor.

Interpretarea rezultatelor testelor poate fi efectuată numai de către un profesionist certificat, împreună cu istoricul clinic al pacientului și cu testele de diagnostic suplimentare efectuate.

Pentru interpretarea lamelor citologice cervicale colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit, lamele trebuie evaluate în ceea ce privește prezența celulelor epiteliale cervicale care prezintă atât colorare roșie nucleară, cât și colorare maronie citoplasmatică, indicând exprimarea p16^{INK4a} și Ki-67 simultană. În plus, similar cu raportarea rezultatelor la examenul citologic Babeș-Papanicolou, probele trebuie evaluate în privința caracterului adecvat al probei conform Bethesda Guidelines 2015 (sau TBS)²⁸ la raportarea rezultatului la testul CINtec PLUS Cytology Kit.

Rezultat pozitiv la test

Prezența uneia sau a mai multor celule epiteliale cervicale cu colocalizarea imunocolorației citoplasmatică maronii specifice și a imunocolorației nucleare roșii specifice în cadrul aceleiași celule se consideră un rezultat pozitiv la testul CINtec PLUS Cytology Kit indiferent de caracteristicile citomorfologice.

Rezultat negativ la test

Dacă nicio celulă epitelială cervicală nu prezintă imunocolorație citoplasmatică maronie și imunocolorație nucleară roșie simultan, rezultatul testului CINtec PLUS Cytology Kit este considerat negativ.

Prezența celulelor epiteliale cervicale care prezintă imunoreactivitate doar pentru unul și nu pentru ambii marcatori (precum colorarea maronie doar pentru p16^{INK4a} sau colorarea roșie doar pentru Ki-67) nu este considerată un rezultat pozitiv la test pentru CINtec PLUS Cytology Kit.

LIMITĂRI SPECIFICE

- Doar pentru uz profesional. Este necesară formarea specială pentru efectuarea procedurilor imunocitochimice.
- Evaluarea lamelor de microscopic colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit trebuie efectuate doar de către un profesionist certificat care a beneficiat de formare în scopul interpretării acestor rezultate de test.
- Interpretarea clinică a oricărei colorări pozitive sau negative trebuie evaluată în contextul prezentării clinice și al criteriilor citologice.
- Interpretarea rezultatelor colorării cu CINtec PLUS Cytology Kit depinde de intensitatea și de calitatea contracolorării cu hematoxilina. Abaterile de la reactivii și timpurile de incubare recomandate necesită validare din partea clientului, deoarece contracolorarea excesivă sau incompletă poate interfera cu interpretarea adecvată a rezultatelor.
- Probele cervicale prezintă adesea niveluri detectabile vizibil de sânge integral. În cazul în care concentrația de sânge integral depășește 1.0%, proba trebuie lizată cu acid acetic glacial (GAA) conform protocolului ThinPrep înainte de pregătirea lamelor.
- Trebuie pregătite lame de frotiu convențional destinate utilizării pentru colorarea cu CINtec PLUS Cytology Kit utilizând lame de microscop din sticlă Superfrost Plus și Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), un reactiv de fixare spray citologic care conține polietilenglicol. Abaterile de la această recomandare necesită validare din partea clientului.
- Utilizarea ThinPrep 3000 Processor nu este recomandată pentru pregătirea probelor ThinPrep, deoarece procedura de fixare cu spray efectuată de instrument poate duce la pierderea substanțială a celulelor atunci când lamele pregătite sunt colorate cu CINtec PLUS Cytology Kit.
- Sunt necesare lame ThinPrep Arcless Microscope sau ThinPrep Microscope Slides pentru prelucrare specială sau lame de microscop Superfrost Plus pentru pregătirea probelor ThinPrep pentru colorarea imunocitochimică cu CINtec PLUS Cytology Kit pe instrumente BenchMark IHC/ISH. Lamele de microscop ThinPrep cu o zonă de screening imprimată pot duce la rezultate inconsecvente de colorare.
- Producătorul furnizează acești anticorpi/reactivi la diluție optimă pentru utilizarea conform instrucțiunilor furnizate în prezentul, pentru testarea imunocitochimică pe lamele de citologie bazată pe lichid (LBC) pregătite. Orice abatere de la procedurile de test recomandate poate invalida rezultatele preconizate; trebuie implementate și documentate controalele adecvate. Utilizatorii care nu respectă procedurile de test recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în acest condiții.
- Este posibil ca nu toate testele să fie înregistrate pe fiecare instrument. Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul dvs. local Roche.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Performanța CINtec PLUS Cytology Kit a fost evaluată prin reproductibilitate analitică și alte studii relevante.

Sensibilitatea și specificitatea analitice

Sensibilitatea și specificitatea analitice ale anticorpilor primari p16 și Ki-67 au fost testate în cadrul testelor de inhibare a peptidelor și de absorbție Western.

Testele de absorbție Western au utilizat lizate din liniile celulare reprezentând un interval de intensități ale colorației. Anticorpul anti-p16^{INK4a} (E6H4) a putut detecta o bandă de aproximativ 15–20 kD în preparatul proteinei p16^{INK4a} recombinantă purificată. De asemenea, anticorpul s-a legat în mod specific de proteina p16^{INK4a} recombinantă purificată și nu de o cantitate echivalentă a proteinei recombinante neasociată. De asemenea, s-a demonstrat că anticorpul se leagă de proteina p16^{INK4a} endogenă, exprimată în lizate derivate din liniile celulare HeLa, SK Mel 28 și DU145 și nu din linia celulară negativă MDA MB 231 p16^{INK4a}. Nivelurile relative de proteină p16^{INK4a} detectate

în lizate din toate cele patru linii celulare la absorbția Western au corespuns cu datele de colorare IHC, demonstrând sensibilitatea de detecție a anticorpilor anti-p16^{INK4a} (E6H4). Legarea clonei anticorpului Ki-67 (274-11AC3V1) a fost testată într-un test de absorbție Western utilizând lizate de celule întregi preparate din L428 (un limfom Hodgkin pozitiv pentru antigenul Ki-67; DSMZ ATCC 197) și linii celulare LNCaP (o linie celulară de carcinom de prostată cu exprimare scăzută a proteinei Ki-67 ATCC CRL-1740). Anticorpul a putut detecta proteina Ki-67 endogenă în lizatele celulare chiar și la niveluri scăzute de exprimare, iar intensitatea benzii a fost corelată cu colorarea IHC pentru Ki-67 în aceste linii celulare. Anticorpul primar Ki-67 CINtec PLUS Cytology Kit (274-11AC3V1) s-a legat de un fragment al proteinei Ki-67 recombinante purificate și nu de cantitatea echivalentă a proteinei de control negativ recombinant neasociată. Legarea din acest test nu a fost detectată în linia celulară cu exprimare scăzută Ki-67 în LNCaP. Nivelurile relative ale proteinei Ki-67 detectată în lizate din aceste linii celulare la absorbția Western este corelată cu datele de colorare IHC și datele de exprimare ARNm. Rezultatele absorbției Western demonstrează faptul că anticorpul primar Ki-67 utilizat în CINtec PLUS Cytology Kit poate detecta proteina Ki-67 endogenă în lizate celulare și fragmentul de proteină Ki-67 recombinantă în formă purificată.

Testele de inhibare a peptidelor au utilizat soluții care conțin peptide specifice p16 sau Ki-67. Cocktailul de anticorpi primari a fost diluat la un raport de volum 1:1 cu soluții de peptide specifice pentru p16 sau Ki-67 de diverse concentrații pentru a cuprinde un interval de rapoarte molare: un exces de raport molar de aproximativ 1x, 10x, 100x, 1000x sau 10000x peptidă comparativ cu concentrația finală a anticorpului în soluție. Cocktailul de anticorpi primari, care conține peptida specifică p16, a servit drept control nespecific pentru anticorpul anti-Ki-67, iar o peptidă Alk-a neasociată a servit drept control nespecific pentru anticorpul anti-p16. O lamă din fiecare probă (trei probe citologice cervicale cumulate și una de celule CaSki) a fost colorată cu fiecare soluție. Rezultatele acestui studiu au indicat faptul că anticorpul anti-p16 leagă în mod specific proteina p16 și că anticorpul anti-Ki-67 leagă în mod specific proteina Ki-67. Conform așteptărilor, intensitățile colorației p16 și Ki-67 au fost reduse în toate probele după colorarea cu soluții ce au conținut respectivele peptide specifice la concentrația de 1 M, fiind obținută inhibarea completă cu soluții ce au conținut ≥ 10 M, nefiind observată nicio reducere a intensității colorației p16 după colorarea cu soluții ce au conținut peptide nespecifice sau care nu au conținut nicio peptidă.

Repetabilitate și precizie intermediară

Au fost efectuate studii de precizie pentru colorarea cu CINtec PLUS Cytology Kit a probelor cervicale ThinPrep pentru a demonstra:

- Precizie generală – Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar a fost calculat pentru fiecare dintre cele 12 probe citologice cervicale cumulate (reprezentate de probe cumulate LBC astfel: 3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- și 3 linii celulare T24 negative cumulate) colorate cu 3 loturi de CINtec PLUS Cytology Kit, în 5 zile neconsecutive, utilizând 2 lame de replicat din fiecare probă cumulată și evaluate de 3 echipe de cititori.
- Precizie între zile – Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar a fost calculat pentru fiecare zi (Ziua 1–Ziua 5), agregând datele din 12 probe citologice cervicale cumulate (reprezentate de probe cumulate LBC astfel: 3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- și 3 linii celulare T24 negative cumulate), 3 loturi de CINtec PLUS Cytology Kit, 2 lame de replicat din fiecare probă cumulată și evaluate de 3 echipe de cititori.
- Precizie între loturi – Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar a fost calculat pentru fiecare lot CINtec PLUS Cytology Kit (Lotul 1–3), agregând datele din 12 probe citologice cervicale cumulate (reprezentate de probe cumulate LBC astfel: 3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- și 3 linii celulare T24 negative cumulate), 5 zile neconsecutive, 2 replicat și 3 echipe de cititori.

Toate lamele au fost anonimizate și randomizate, apoi au fost evaluate conform interpretării colorării CINtec PLUS Cytology Kit. Lamele au fost evaluate de trei echipe de cititori, fiecare fiind formată dintr-un citotehnolog și un patolog. Rezultatul (pozitiv sau negativ) pentru apelul majoritar sau cu modul la nivel de caz a fost utilizat ca referință pentru a determina procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar. Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar este echivalent cu PPA atunci când apelul majoritar este pozitiv și cu NPA atunci când apelul majoritar este negativ. Rezultatele sunt rezumate în Tab. 5, Tab. 6 și Tab. 7. Toate intervalele de încredere (CI-uri) au fost intervale de încredere de 95% bilaterale. CI-urile au fost calculate folosind metoda buclei funcției de repartiție, cu excepția cazului în care valorile estimate ale punctului au fost 100%, s-a folosit metoda scorului Wilson.

Tab. 5. Studiu de precizie în cadrul aceluiași laborator – precizie generală

Categoria de probe cumulate	Număr de evaluări	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology Kit (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar	Interval de încredere de 95%
Linie celulară T24	270	Negativă	100.0%	(98.6, 100.0)
NILM/HPV-	270	Negativă	94.1%	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Pozitivă	61.1%	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Pozitivă	93.3%	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Pozitivă	100.0%	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Pozitivă	98.9%	(96.7, 100.0)

Tab. 6. Studiu de precizie în cadrul aceluiași laborator – precizie între zile

Categoria de probe cumulate	Număr de evaluări	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology Kit (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar				
			Ziua 1	Ziua 2	Ziua 3	Ziua 4	Ziua 5
Linie celulară T-24	270	Negativă	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negativă	88.9%	90.7%	98.1%	98.1%	94.4%
NILM/HPV+	90	Pozitivă	44.4%	50.0%	77.8%	66.7%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Pozitivă	94.4%	88.9%	88.9%	94.4%	100.0%
LSIL/HPV+	90	Pozitivă	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitivă	100.0%	94.4%	100.0%	100.0%	100.0%

Tab. 7. Studiu de precizie în cadrul aceluiași laborator – precizie între loturi

Categoria de probe cumulate	Număr de evaluări	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology Kit (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar		
			Lotul 1	Lotul 2	Lotul 3
Linie celulară T24	270	Negativă	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negativă	92.2%	93.3%	96.7%
NILM/HPV+	90	Pozitivă	46.7%	70.0%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Pozitivă	90.0%	96.7%	93.3%
LSIL/HPV+	90	Pozitivă	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitivă	100.0%	100.0%	96.7%

Precizia cititorului

Pentru a evalua precizia cititorului, trei echipe de cititori, fiecare fiind formată dintr-un citotehnolog și un patolog, au evaluat toate lamele colorate pentru studiile de precizie, inclusiv 2 replicare din 12 probe citologice cervicale cumulate (reprezentate de probe cumulate LBC astfel: 3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- și 3 linii celulare T24 negative cumulate), 3 loturi de CINtec PLUS Cytology Kit, în 5 zile neconsecutive. Procentul de rezultate la fel ca cel al apelului majoritar a fost calculat pe baza rezultatelor agregate pentru echipele dintre cititori și sunt rezumate în Tab. 8.

Tab. 8. Studiu de precizie în cadrul aceluiași laborator – precizie între cititori

Categoria de probe cumulate	Număr de evaluări	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology Kit (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar		
			Echipele de cititori 1	Echipele de cititori 2	Echipele de cititori 3
Linie celulară T-24	270	Negativă	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Negativă	95.6%	91.1%	95.6%
NILM/HPV+	90	Pozitivă	70.0%	63.3%	50.0%
ASC-US/HPV+	90	Pozitivă	100.0%	90.0%	90.0%
LSIL/HPV+	90	Pozitivă	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Pozitivă	98.9%	98.9%	98.9%

externă

Au fost efectuate studii de reproductibilitate pentru CINtec PLUS Cytology Kit pentru a demonstra:

- Reproductibilitatea între loturi a kitului CINtec PLUS Cytology Kit (Tab. 9),
- Reproductibilitatea în cadrul aceleiași testări (Tab. 10) și între testări (Tab. 11) pe instrumentele BenchMark GX, XT și ULTRA
- Reproductibilitatea în cadrul aceleiași platforme pe instrumentele BenchMark GX, XT și ULTRA (Tab. 12),
- Reproductibilitatea între platforme între instrumentele BenchMark GX, XT și ULTRA (Tab. 13).

Tab. 9. Reproductibilitatea între loturi a kitului CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipul de probă	Acord procentual general
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tab. 10. Reproductibilitatea în cadrul aceleiași testări a kitului CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipul de probă	Acord procentual general		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tab. 11. Reproductibilitatea între testări a kitului CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipul de probă	Acord procentual general		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Tab. 12. Reproductibilitatea în cadrul aceleiași platforme a kitului CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipul de probă	Acord procentual general		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tab. 13. Reproducibilitatea între platforme a kitului CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipul de probă	Acord procentual general
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Aceste studii au fost efectuate pe probe cervicale ThinPrep și SurePath. Toate studiile au îndeplinit criteriile de acceptanță predeterminate.

Studii de concordanță

Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit pentru utilizarea pe instrumentele BenchMark GX, XT și ULTRA a fost evaluată prin comparație cu CINtec PLUS Kit (dispozitiv omologat, Roche mtm laboratories AG, Mannheim) care a demonstrat anterior o sensibilitate și specificitate ridicate pentru prezența bolii precanceroase și canceroase în probele citologice cervicale în ceea ce privește prezența celulelor epiteliale cervicale individuale prezintă un rezultat de colorație duală pozitiv pentru p16^{INK4a} și Ki-67.^{7-15,18,20,23,25-28}

Studiile de concordanță au fost efectuate folosind probe de la pacienți din populația din domeniul de utilizare cu un rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolaou (negativ pentru leziune intraepitelială sau malignitate), ASC-US, LSIL și HSIL pentru fiecare dintre metodele individuale de preparare a citologiei cervicale: ThinPrep, BD SurePath și lame de frotiu convențional. Pentru probele LBC, au fost pregătite două lame din fiecare probă de pacient. Pentru frotiurile convenționale, au fost pregătite două lame de la același pacient la aceeași vizită, divizând materialul recoltat între două lame („tehnica de divizare a probei”). O lamă a fost testată cu CINtec PLUS Cytology Kit pe un instrument BenchMark IHC/ISH și o lamă a fost colorată cu dispozitivul omologat.

Algoritm de citire pentru probele LBC:

Fiecare lamă a fost citită de doi cititori calificați. Dacă aceștia au căzut de acord asupra rezultatului, s-a considerat rezultatul final pentru respectiva lamă. Dacă aceștia nu au căzut de acord asupra rezultatului, a fost efectuată o citire de adjudecare de către un cititor terț, iar rezultatul majoritar a devenit rezultatul final pentru respectiva lamă.

Algoritm de citire pentru lamele de frotiu convențional:

Fiecare lamă a fost citită de doi cititori calificați. Dacă ambii cititori au stabilit scorul lamei drept pozitiv, rezultatul final pentru respectiva lamă a fost pozitiv. Dacă aceștia nu au căzut de acord asupra rezultatului, lama a fost revizuită de trei cititori ca panel pentru o revizuire pentru consens, iar rezultatul a devenit cel final pentru respectiva lamă. Dacă ambii cititori au stabilit scorul lamei drept negativ, lama a fost citită de către un al treilea cititor pentru a confirma rezultatul negativ. Dacă cel de-al treilea cititor a confirmat rezultatul negativ, rezultatul final pentru lamă a fost negativ. Dacă cel de-al treilea cititor a stabilit scorul lamei drept pozitiv, lama a fost supusă unei revizuii pentru consens în cadrul unui panel, care a devenit rezultatul final pentru respectiva lamă.

Acordul rezultatelor de test este raportat ca acordul procentual pozitiv (PPA) și acordul procentual negativ (NPA), ± intervalul de încredere de 95% (CI) între CINtec PLUS Cytology Kit pentru utilizare pe un instrument BenchMark IHC/ISH și dispozitivul omologat.

Tab. 14. Acordul rezultatelor de test între CINtec PLUS Cytology Kit și dispozitivul omologat la pregătirea lamelor citologice cervicale ThinPrep.

		Dispozitiv omologat	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
Total		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%)			

Tab. 15. Acordul rezultatelor de test între CINtec PLUS Cytology Kit și dispozitivul omologat la pregătirea lamelor citologice cervicale SurePath.

		Dispozitiv omologat	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
Total		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%)			

Tab. 16. Acordul rezultatelor de test între CINtec PLUS Cytology Kit și dispozitivul omologat la pregătirea lamelor citologice cervicale de frotiu convențional.

		Dispozitiv omologat	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
Total		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%)			

Studii pentru Roche Cell Collection Medium

Performanța Roche Cell Collection Medium comparativ cu soluția PreservCyt a fost evaluată colorând 616 perechi de probe (cazuri) cervicale utilizând CINtec PLUS Cytology Kit. Pentru fiecare caz, a fost pregătită câte o lamă din fiolele PC sau RCCM respective. Toate lamele au fost citite de către o echipă formată dintr-un citotehnolog/patolog, pentru care a fost anonimizată identitatea lamelor. Compararea rezultatelor de test CINtec PLUS Cytology Kit între medii (PC comparativ cu RCCM) este rezumată în Tab. 17. Ratele de pozitivitate au fost calculate împărțind numărul de cazuri pozitive la numărul total de cazuri adecvate pentru fiecare mediu. Rezultatele indică o diferență între cele două rate de pozitivitate de 2.4% (1.5, 6.3).

Tab. 17. Echivalența pentru ratele de pozitivitate CINtec PLUS Cytology Kit ale Roche Cell Collection Medium (RCCM) și PreservCyt (PC).

Rezultatul CINtec PLUS Cytology Kit pentru RCCM	Rezultatul CINtec PLUS Cytology Kit pentru PC		
	Pozitiv	Negativ	Total
Pozitiv	170	48	218
Negativ	37	204	241
Total	207	252	459
Rata de pozitivitate RCCM, n/N (%): 218/459 (47.5%)			
Rata de pozitivitate PC, n/N (%): 207/459 (45.1%)			
Diferența ratelor de pozitivitate, n/N (%): 11/459 (2.4%; 95% CI: -1.5, 6.3)			

Rezultatele CINtec PLUS Cytology Kit pentru adecvarea celularității comparând PreservCyt și Roche Cell Collection Medium sunt rezumate în Tab. 18. Ratele de celularitate adecvate au fost calculate împărțind numărul de cazuri cu celularitate adecvată la numărul total de cazuri pentru fiecare mediu. Rezultatele indică diferența între cele două rate de celularitate adecvate de 3.2% (-0.0, 6.6).

Tab. 18. Compararea adecvării celularității CINtec PLUS Cytology Kit pentru Roche Cell Collection Medium (RCCM) și PreservCyt (PC).

Adecvarea celularității CINtec PLUS Cytology Kit pentru RCCM	Adecvarea celularității CINtec PLUS Cytology Kit pentru PC		
	Da	Nu	Total
Da	468	63	531
Nu	43	42	85
Total	511	105	616
Rata de adecvare RCCM, n/N (%):	531/616 (86.2%)		
Rata de adecvare PC, n/N (%):	511/616 (83.0%)		
Diferența ratelor de adecvare, n/N (%):	20/616 (3.2%; 95% CI: -0.0, 6.6)		

Studiul privind reproductibilitatea între laboratoare pe platforma de colorare BenchMark ULTRA PLUS

A fost efectuat un studiu de reproductibilitate pentru a evalua testul CINtec PLUS Cytology pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS pentru detecția imunocitochimică dublă a p16INK4a și Ki-67 în probele citologice. Studiul a inclus 2 culturi diferite de celule T24 și 10 probe cumulate derivate de la pacienți (2 probe cumulate LBC astfel: 2 HSIL/HPV+, 2 LSIL/HPV+, 2 ASC-US/HPV+, 2 NILM/HPV+ și 2 NILM/HPV-). Culturile de celule T24 au fost preparate dintr-o singură bancă de celule de lucru. Fiecare dintre cele 3 centre de studiu a fost furnizat cu alicote din fiecare grup de probe cumulate, cultura de celule T24 și un grup de control care conține volum suficient pentru a susține testarea planificată la fiecare centru. În fiecare dintre cele cinci zile de colorare, centrele au preparat o lamă de test din fiecare alicotă fumizată de RTD utilizând un procesor de lame ThinPrep 2000 sau ThinPrep 5000. După prepararea lamelor, fiecare centru a colorat un set de 13 lame pe un instrument BenchMark ULTRA PLUS. Cele 5 zile de colorare au fost neconsecutive și s-au întins pe minimum 20 de zile. La fiecare centru, 2 echipe de cititori, fiecare fiind formată dintr-un citotehnolog și un patolog, au evaluat independent lamele colorate la fiecare centru pentru prezența sau absența colorării duble și au alocat lamei un rezultat pozitiv, negativ sau nesatisfăcătoare pentru testul CINtec PLUS Cytology. Echipelor de cititori nu le-au fost cunoscute starea HPV, starea examenului citologic Babeș-Papanicolau, rezultatele testelor CINtec PLUS Cytology sau alte informații clinice.

Datele au fost introduse direct în baza de date clinică și au fost analizate pentru a determina reproductibilitatea testului între mai multe centre, zile și echipe de cititori. Ratele de acceptabilitate de fond și ratele de acceptabilitate de celularitate pentru toate cazurile au fost de 100% pentru toate instrumentele. Rezultatele sunt prezentate în Tab. 19 și Tab. 20.

Tab. 19. Studiu de reproductibilitate între laboratoare a instrumentului BenchMark ULTRA PLUS - reproductibilitatea între centre

Categorია de probe cumulate	Număr de evaluări	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar		
			Centrul A	Centrul B	Centrul C
Linie celulară T24	60	Negativă	95.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	60	Negativă	100.0%	95.0%	100.0%
NILM/HPV+	60	Pozitivă	90.0%	80.0%	95.0%
ASC-US/HPV+	60	Pozitivă	100.0%	95.0%	100.0%
LSIL/HPV+	60	Pozitivă	100.0%	95.0%	100.0%
HSIL/HPV+	60	Pozitivă	100.0%	100.0%	100.0%

Tab. 20. Studiu de reproductibilitate între laboratoare a instrumentului BenchMark ULTRA PLUS - precizia generală

Categoria de probe cumulate	Modul rezultatelor CINtec PLUS Cytology (apel majoritar)	Procentul rezultatelor identice cu apelul majoritar	n/N	Intervale de încredere de 95%
Linie celulară T24	Negativă	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Negativă	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Pozitivă	88.3%	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Pozitivă	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Pozitivă	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Pozitivă	100.0%	60/60	(94.0, 100.0)

Concordanța între instrumentele BenchMark ULTRA PLUS și BenchMark ULTRA (probe ThinPrep)

Trei laboratoare au participat la un studiu de concordanță între instrumentul BenchMark ULTRA PLUS și instrumentul BenchMark ULTRA. Acest studiu a utilizat 220 de probe cumulate LBC din probe cervicale ThinPrep anonimizate preparate la Roche Tissue Diagnostics (RTD) în următoarele categorii: 88 de probe cumulate cu rezultat pozitiv, 22 de probe cumulate cu rezultat pozitiv la limită, 22 de probe cumulate cu rezultat intermediar negativ și 88 de probe cu rezultat negativ din culturi celulare T24. Un set de 4 lame din fiecare probă au fost preparate la RTD utilizând procesorul de lame ThinPrep 2000 sau ThinPrep 5000. Prima lamă preparată din fiecare set a fost colorată pe un instrument BenchMark ULTRA la RTD. Una dintre cele 3 lame rămase au fost furnizate fiecărui centru de studiu pentru colorarea cu testul CINtec PLUS Cytology pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS. Lama BenchMark ULTRA colorată la RTD a fost evaluată pentru prezența sau absența colorării duble și a fost alocat un rezultat pozitiv, negativ sau nesatisfăcător de o echipă de cititori de la RTD, fiind formată dintr-un citotehnolog și un patolog, pentru a stabili un scor de referință. La fiecare centru, o echipă de cititori de studiu a evaluat independent lamele colorate pe instrumentul BenchMark ULTRA pentru un rezultat al testului CINtec PLUS Cytology. Lamele colorate pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS la fiecare centru au fost evaluate de echipa de cititori a centrului respectiv pentru un rezultat al testului CINtec PLUS Cytology. Prin urmare, fiecare echipă de cititori a centrului a evaluat o lamă colorată pe un instrument BenchMark ULTRA și pe un instrument BenchMark ULTRA PLUS pentru fiecare probă. Citirile lamelor colorate pe BenchMark ULTRA și BenchMark ULTRA PLUS au fost separate de o perioadă de eliminare de două săptămâni. Tuturor echipelor de cititori nu le-au fost cunoscute starea HPV, starea examenului citologic Babeș-Papanicolau, rezultatele testelor CINtec PLUS Cytology sau alte informații clinice.

Echivalența performanței testului CINtec PLUS Cytology a fost considerată acceptabilă pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS dacă ratele PPA și NPA au avut o limită inferioară a intervalelor de încredere bilaterale de 95% de minimum 85%. A fost necesar ca rata de acceptabilitate pentru fondul și celularitatea lamelor de test colorate cu CINtec PLUS Cytology pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS să fie acceptabilă pentru ≥ 90% dintre toate lamele de test pentru promovarea studiului. Ratele de acceptabilitate pentru fond și celularitate pentru toate lamele de test au fost de 99.7% și respectiv 99.4%. Tab. 21 de mai jos prezintă un rezumat al ratei de acord al stării CINtec PLUS Cytology între instrumentele BenchMark ULTRA și BenchMark ULTRA PLUS.

Tab. 21. Studiu pentru concordanța între instrumentul BenchMark ULTRA și BenchMark ULTRA PLUS - acordul cumulat al stării CINtec PLUS Cytology între platforme (ThinPrep)

BenchMark ULTRA PLUS	Starea CINtec PLUS Cytology			Acord		
	BenchMark ULTRA			Rată	% (n/N)	95% CI
	Pozitivă	Negativă	Total			
Pozitivă	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)

Starea CINtec PLUS Cytology			Acord			
BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA		Total	Rată	% (n/N)	95% CI
	Pozitivă	Negativă				
Negativă	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Total	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Notă: Ratele de acord cumulat au cuprins toate probele și toate echipele de cititori pentru ULTRA PLUS.

Notă: PPA = acord procentual pozitiv; NPA = acord procentual negativ; OPA = acord procentual general

Studiul privind reproductibilitatea în cadrul aceleiași laborator pe platforma de colorare BenchMark ULTRA PLUS

A fost efectuat un studiu de reproductibilitate în cadrul aceleiași laborator pentru a evalua repetabilitatea în cadrul aceleiași testări, precizia intermediară între zile și precizia intermediară între instrumente ale testului CINtec PLUS Cytology în probele SurePath. Studiul a inclus 2 culturi diferite de celule T24 și 9 probe cumulate SurePath derivate de la pacienți (3 probe CINtec cu rezultat pozitiv/HPV+, 3 probe cu rezultat la limită și 3 probe CINtec cu rezultat negativ/HPV-). Lamele de test au fost preparate pe instrumentul de preparare a lamelor BD Totalys în fiecare dintre cele cinci zile de colorare, care au fost neconsecutive și s-au întins pe minimum 20 de zile. Au fost utilizate trei instrumente BenchMark ULTRA PLUS pentru a evalua reproductibilitatea între instrumente. Lamele de test au fost evaluate de o echipă de cititori formată dintr-un citotehnolog și un patolog instruit pentru a evalua CINtec PLUS Cytology. Concordanța lamelor de test au fost determinate prin compararea stării CINtec PLUS Cytology a lamelor de test cu modul la nivel de caz (PLM), care este definită ca rezultatul cu starea cea mai frecventă printre toate evaluările ale unui grup cumulat, agregând datele din toate instrumentele, toate zilele și toate replicatele pentru respectivul grup. Ratele de acceptabilitate pentru fond și celularitate pentru toate lamele de test au fost de 99.4% și respectiv 99.7%. Rezultatele sunt prezentate în Tab. 22, Tab. 23, Tab. 24 și Tab. 25 de mai jos.

Tab. 22. Studiu de precizie în cadrul aceleiași laborator - precizia generală a probelor SurePath cu rezultat real pozitiv și rezultat real negativ

Starea CINtec PLUS	Starea modală la nivel de caz			Acord		
	Pozitivă	Negativă	Total	Măsura	% (n/N)	95% CI
Pozitivă	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Negativă	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Total	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

Tab. 23. Studiu de precizie în cadrul aceleiași laborator - precizia intermediară între zile

Zi	Aceleși rezultat cu PLM, n (%)	Rezultat diferit față de PLM, n (%)	Total, n (%)
Ziua 1	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Ziua 2	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
Ziua 3	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Ziua 4	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Zi	Aceleși rezultat cu PLM, n (%)	Rezultat diferit față de PLM, n (%)	Total, n (%)
Ziua 5	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Tab. 24. Studiu de precizie în cadrul aceleiași laborator - repetabilitatea în cadrul aceleiași testări

Replicat	Aceleși rezultat cu PLM, n (%)	Rezultat diferit față de PLM, n (%)	Total, n (%)
Replicatul 1	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
Replicatul 2	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

Tab. 25. Studiu de precizie în cadrul aceleiași laborator - precizia intermediară între instrumente

Instrument	Aceleși rezultat cu PLM, n (%)	Rezultat diferit față de PLM, n (%)	Total, n (%)
Instrumentul 1	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrumentul 2	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrumentul 3	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Concordanța între platformele de colorare BenchMark ULTRA PLUS și BenchMark ULTRA (probe SurePath)

A fost efectuat un studiu de concordanță intern pentru a verifica performanța de colorare echivalentă a kitului CINtec PLUS Cytology între platformele de colorare BenchMark ULTRA și ULTRA PLUS pe probele SurePath. Studiul a inclus culturi de linii celulare T24 cu 88 de rezultate real pozitive, 26 de rezultate pozitive la limită, 26 de rezultate intermediare negative și 88 de rezultate real negative. Au fost preparate două lame de test din fiecare probă pe instrumentul de preparare a lamelor BD Totalys, care au fost apoi colorate cu CINtec PLUS Cytology pe BenchMark ULTRA sau BenchMark ULTRA PLUS. Lamele de test au fost evaluate de o echipă de cititori formată dintr-un citotehnolog și un patolog instruit pentru a evalua CINtec PLUS Cytology. Echivalența performanței testului CINtec PLUS Cytology a fost considerată acceptabilă pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS dacă ratele PPA și NPA au avut o limită inferioară a intervalelor de încredere bilaterale de 95% de minimum 85%. A fost necesar ca rata de acceptabilitate pentru fond și celularitatea lamelor de test colorate cu CINtec PLUS Cytology pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS să fie acceptabilă pentru ≥ 90% dintre toate lamele de test pentru promovarea studiului. Ratele de acceptabilitate pentru fond și celularitate pentru toate lamele de test au fost de 99.6% și respectiv 99.1%. Rezultatele sunt rezumate în Tab. 26 de mai jos.

Tab. 26. Studiu pentru concordanța între instrumentul BenchMark ULTRA și BenchMark ULTRA PLUS (SurePath)

Starea ULTRA PLUS	Starea ULTRA			Acord		
	Pozitivă	Negativă	Total	Măsura	% (n/N)	95% CI
Pozitivă	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Negativă	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Total	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

PERFORMANȚĂ CLINICĂ

A fost conceput un studiu prospectiv, multicentric (IMPACT, Improved Primary screening And Colposcopy Triage – Triajul pentru screening și colposcopie îmbunătățite) pentru a

evalua performanța clinică a CINtec PLUS Cytology Kit pe instrumentul BenchMark ULTRA, utilizând probe cervicale recoltate clinic în soluția PreservCyt® pentru identificarea bolii cervicale de grad ridicat. Studiul a fost conceput pentru a evalua performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit ca test de reflex la femeile cu vârsta ≥ 25 de ani care au avut rezultat pozitiv la HPV cu cobas® 4800 HPV Test sau cobas® 6800/8800 HPV Test. Datele din acest studiu susțin utilizarea CINtec PLUS Cytology Kit ca ajutor în identificarea femeilor cu leziuni intraepiteliale cervicale de grad ridicat la pacienții cu rezultate pozitive la testul HPV cu risc crescut.

Caracteristicile de performanță ale CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau la femei cu vârste cuprinse între 25 și 65 de ani cu rezultate pozitive la cobas® 6800/8800 HPV Test sau cobas® 4800 HPV Test

Performanța comparativă a kitului CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau la femeile cu rezultat pozitiv la cobas® 6800/8800 HPV Test și cobas® 4800 HPV Test sunt prezentate în următoarele tabele pentru populațiile cu 12 alte tipuri de HPV+ (Tab. 27), HPV16+ (Tab. 28) și, respectiv, HPV18+ (Tab. 29) cu risc crescut. În cele trei grupuri de genotipuri, s-a observat o creștere a sensibilității și o scădere a specificității pentru detecția bolii cervicale de grad ridicat pentru CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau (Tab. 27, Tab. 28 și Tab. 29).

Atât în rândul femeilor cu rezultat pozitiv la cobas® 6800/8800 HPV Test, cât și la cobas® 4800 HPV Test, au observate o creștere maximă a sensibilității (diferența = 23.1% și, respectiv, 24.2%) și o scădere minimă a specificității (diferența = 7.9% și, respectiv 8.7%) în ceea ce privește examenul citologic Babeș-Papanicolau, în rândul populațiilor cu alte 12 tipuri de HPV+ cu risc crescut (Tab. 27).

În toate cazurile, utilizarea kitului CINtec PLUS Cytology Kit a avut ca rezultat o reducere substanțială a riscului de boală pentru rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu rezultatul NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau. În rândul femeilor cu rezultat pozitiv la cobas® 6800/8800 HPV Test, 1-NPV a fost cu 3.7%, 6.1% și 1.2% mai mic pentru \geq CIN2 și cu 0.9%, 3.3% și 0.3% pentru \geq CIN3 în rândul populațiilor cu alte 12 tipuri de HPV+, HPV16+ și, respectiv, HPV18+ cu risc crescut. În rândul femeilor cu rezultat pozitiv la cobas® 4800 HPV Test, 1-NPV a fost cu 3.4%, 9.1% și 3.3% mai mic pentru \geq CIN2 și cu 0.8%, 5.1% și 0.5% pentru \geq CIN3 în rândul populațiilor cu alte 12 tipuri de HPV+, HPV16+ și, respectiv, HPV18+ cu risc crescut.

Tab. 27. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau la 12 alte femei cu HPV+ cu risc crescut, cu vârste cuprinse între 25 și 65 de ani.

cobas® 6800/8800 system, 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	11.2 (306/2722)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	10.7 (312/2906)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	3.2 (94/2906)		
Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.			

Tab. 28. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau la femei cu HPV16+ cu vârste cuprinse între 25 și 65 de ani.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	23.8 (190/800)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	31.6 (188/594)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	19.7 (117/594)		
Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.			

Tab. 29. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit comparativ cu examenul citologic Babeș-Papanicolau la femei cu HPV18+ cu vârste cuprinse între 25 și 65 de ani.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	10.2 (37/364)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	14.3 (32/223)		
Măsura de performanță	Diagnostic CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Examenul citologic Babeș-Papanicolau	Diferență
Sensibilitate (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	6.7 (15/223)		
Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.			

Caracteristicile de performanță în cadrul populației cobas® 6800/8800 HPV Test sau cobas® 4800 HPV Test, rezultate pozitive, femei cu vârste cuprinse între 30 și 65 de ani cu rezultatul NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau

Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit în ceea ce privește detecția ≥ CIN2 și ≥ CIN3 la femeile cu 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau este prezentată în Tab. 30.

În cazul populației cu cobas® 6800/8800 system, femeile cu 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea pentru detecția ≥ CIN2 au fost de 66.7% și, respectiv, 69.7% (62.5% și, respectiv, 67.8%, pentru ≥ CIN3). PPV-urile în acest grup au fost de 13.0% pentru ≥ CIN2 și de 2.6% pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 3.1% pentru ≥ CIN2 și, respectiv, de 0.8% pentru ≥ CIN3.

În cazul populației cu cobas® 4800 system, femeile cu 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea pentru detecția ≥ CIN2 au fost de 64.9% și, respectiv, 71.0% (66.7% și, respectiv, 69.4%, pentru ≥ CIN3). PPV-urile în acest grup au fost de 12.0% pentru ≥ CIN2 și de 2.5% pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 2.9% pentru ≥ CIN2 și, respectiv, de 0.6% pentru ≥ CIN3.

Tab. 30. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit la 12 alte femei cu HPV+ cu risc crescut, cu vârste cuprinse între 30 și 65 de ani cu citologia NILM.

Măsura de performanță	cobas® 6800/8800 system, 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut/NILM		cobas® 4800 system, 12 alte tipuri de HPV+ cu risc crescut/NILM	
	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3
Sensibilitate (%)	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)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	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)
Rată de pozitivitate (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	

Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; PLR = Raport de probabilitate pozitiv; NLR = Raport de probabilitate negativ; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.

Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit în ceea ce privește detecția ≥ CIN2 și ≥ CIN3 la femeile cu HPV16+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau este prezentată în Tab. 31.

În cazul populației cu cobas® 6800/8800 system, femeile cu HPV16+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea au fost de 76.3% și, respectiv, 72.5% pentru ≥ CIN2, 75.0% și, respectiv, 70.5% pentru ≥ CIN3. PPV-urile în acest grup au fost de 23.8% pentru ≥ CIN2 și de 14.8% pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 3.5% pentru ≥ CIN2 și, respectiv, de 2.4% ≥ CIN3.

În cazul populației cu cobas® 4800 system, femeile cu HPV16+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea au fost de 80.6% și, respectiv, 61.7% pentru ≥ CIN2, 81.8% și, respectiv, 59.0% pentru ≥ CIN3. PPV-urile în acest grup au fost de 27.9% pentru ≥ CIN2 și de 17.3% pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 5.5% pentru ≥ CIN2 și, respectiv, de 3.1% pentru ≥ CIN3.

Tab. 31. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit la femeile cu HPV16+ cu vârste cuprinse între 30 și 65 de ani cu citologia NILM.

Măsura de performanță	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3
Sensibilitate (%)	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)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	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)
Rată de pozitivitate (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	

Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; PLR = Raport de probabilitate pozitiv; NLR = Raport de probabilitate negativ; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.

Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit în ceea ce privește detecția ≥ CIN2 și ≥ CIN3 la femeile cu HPV18+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau este prezentată în Tab. 32.

În cazul populației cu cobas® 6800/8800 system, femeile cu HPV18+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea au fost de 75.0% și, respectiv, 73.3% pentru ≥ CIN2 și de 66.7% și, respectiv, 72.1% pentru ≥ CIN3. PPV-urile au fost de 9.7% și, respectiv, 3.2% pentru ≥ CIN2 și pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 1.3% și 0.6% pentru ≥ CIN2 și, respectiv, ≥ CIN3.

În cazul populației cu cobas® 4800 system, femeile cu HPV18+ cu rezultat NILM la examenul citologic Babeș-Papanicolau, sensibilitatea și specificitatea au fost de 85.7% și, respectiv, 68.3% pentru ≥ CIN2 și de 66.7% și, respectiv, 65.7% pentru ≥ CIN3. PPV-urile au fost de 15.8% și, respectiv, 5.3% pentru ≥ CIN2 și pentru ≥ CIN3, în timp ce riscul de boală în cazul femeilor cu rezultate negative la CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) a fost de 1.4% pentru ambele valori de referință pentru boală.

Tab. 32. Performanța kitului CINtec PLUS Cytology Kit la femei cu HPV18+ cu vârste cuprinse între 30 și 65 de ani cu citologia NILM.

Măsura de performanță	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3	Diagnostic CPR ≥ CIN2	Diagnostic CPR ≥ CIN3
Sensibilitate (%)	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)
Specificitate (%)	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)
Prevalență (%)	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)
Rată de pozitivitate (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Notă: CPR = Revizuire patologică centrală; PPV = Valoare predictivă pozitivă; NPV = Valoare predictivă negativă; PLR = Raport de probabilitate pozitiv; NLR = Raport de probabilitate negativ; numerele între paranteze sunt (n/N) și intervale de încredere de 95% bilaterale.

DEPANARE

1. Dacă un dozator de reactiv nu dozează fluid, verificați camera de dozare a primerului sau meniscul pentru a depista corpuri străine sau particule, cum ar fi fibrele sau precipitatele. Dacă dozatorul este blocat, nu utilizați dozatorul și contactați reprezentantul dvs. de asistență local. În caz contrar, reamorsați dozatorul orientând dozatorul către un container de deșeuri, scoateți capacul duzei și apăsați în jos capul dozatorului.
2. Ocazional, se poate observa cristalizarea provenită din dozatorul CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate. Investigațiile nu au indicat nicio interferență a cristalelor cu interpretarea rezultatelor. Dacă sunt observate cristale pe lame, curățați vârful duzei și amorsați dozatorul pentru a asigura că este îndepărtată orice reziduu de cristal. În cazul în care cristalele persistă, întrerupeți utilizarea și contactați reprezentantul de asistență local pentru înlocuirea dozatorului.
3. În cazul în care controlul pozitiv prezintă o colorare mai slabă decât este de așteptat, verificați dacă protocolul selectat corespunde tipului de probă specific; de exemplu, preparatele citologice SurePath necesită un timp de condiționare a celulei mai mare decât lamele ThinPrep sau preparatele de frotiu convențional. În plus, asigurați-vă că toate cilindrul dozatoarelor nu conțin reziduuri.
4. În cazul în care controlul pozitiv este negativ, acesta trebuie verificat pentru a vă asigura că lama are eticheta cu codul de bare corect. Dacă lama este etichetată în mod adecvat, asigurați-vă că toate cilindrul dozatoarelor nu conțin reziduuri.
5. Dacă este observată o colorație de fond puternică, reduceți timpul de incubare în protocoalele de colorare. În plus, asigurați-vă că volumul de soluție Reaction Buffer a fost formulat corect.
6. Dacă este observată o colorare slabă, creșteți timpul de incubare în protocoalele de colorare. Pe o lamă de frotiu convențional, poate fi ajustat, de asemenea, timpul de incubare pentru condiționarea celulei.
7. Precipitatul roșu utilizat pentru a indica exprimarea proteinei Ki-67 este solubil în alcool. În cazul în care colorarea Ki-67 este slabă sau absentă, asigurați-vă că hematoxiina care conține alcool nu a fost utilizată și că procedura de post-prelucrare recomandată a fost respectată, conform instrucțiunilor din Procedura de post-prelucrare - fixe și aplicarea lamelelor de acoperire.

8. Dacă proba se spală de pe lamă, lamele trebuie verificate pentru a se asigura faptul că proba a fost pregătită corespunzător conform secțiunii Pregătirea probelor și că a fost utilizat tipul recomandat de lame de microscop.
9. Pentru acțiuni corective, consultați secțiunea Procedura de colorare din Ghidul de utilizare a instrumentului sau contactați reprezentantul de asistență local.
10. Dacă un capac de probă RCCM este pierdut sau fiola de probă prezintă scurgeri, pot fi comandate capace de schimb (slăbit, 250/pungă, REF. 08037230190 sau 8 tăvi de 48/cutie, REF. 06913512001).

REFERINȚE

1. Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. Cell. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
2. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
3. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17(10):2536-2545.
4. Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16^{INK4a} immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. Cancer Cytopathol. 2012;120(5):294-307.
5. Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4a results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76.
6. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
7. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66.
8. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-9.

9. Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. *Am J Clin Pathol.* 2012;138(5):652-6.
10. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16/INK4a and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(1):26-34.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(20):1550-7.
12. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Sep 15;107(12):djv257.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. 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. Arean-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. *Virchows Arch.* 2018;473(5):599-606.
25. Ebisch RMF, van der Horst J, Hermsen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. *Mod Pathol.* 2017;30(7): 1021-1031.
26. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
27. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 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.

NOTĂ: Punctul este utilizat întotdeauna în acest document ca separator zecimal pentru a marca limita dintre numărul întreg și părțile fracționale ale unui număr zecimal. Nu se utilizează separatoare pentru mii.

Rezumatul securității și performanței se regăsește aici:

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

Simboluri

Ventana utilizează următoarele simboluri și semne în plus față de cele menționate în standardul ISO 15223-1 (pentru USA: consultați elabdoc.roche.com/symbols pentru mai multe informații).



Numărul global al articolului comercial

Rx only

For USA: Atenție: Legislația federală restricționează vânzarea acestui dispozitiv de către sau la ordinul unui medic.

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
J	Au fost actualizate Șablonul și Etichetarea. S-a adăugat BenchMark ULTRA PLUS.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC și COBAS reprezintă mărci comerciale ale Roche. Toate celelalte nume de produs și mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

www.roche.com

