

CINtec® PLUS Cytology Kit

REF

605-100

06889565001

IVD

100

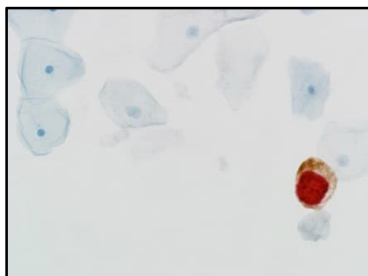


Fig. 1. Cervikale epitelceller, som er positive for p16^{INK4a} (brun cytoplasmisk farve) og for Ki-67 (rød kernefarve).

TILSIGTET ANVENDELSE

CINtec PLUS Cytology Kit er en immunhistokemianalyse beregnet til laboratoriebrug til samtidig kvalitativ detektion af p16^{INK4a}- og Ki-67-proteinerne i cervikale cytologi præparater, der er farvet på et BenchMark IHC/ISH-instrument. Den indikeres til brug som en hjælp til at identificere cervikale intraepitelliale læsioner af høj grad hos kvinder i en screeningpopulation og i patientundergrupper med Pap-cytologieresultatet ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) eller LSIL (lavgrads-

intraepitellial læsion af pladecelle) eller hos patienter med positivt højrisiko-HPV-testresultat.

Testresultaterne må kun fortolkes af en fagperson på baggrund af patientens anamnese og resultaterne af eventuelle andre udførte diagnostiske tests.

Produktet er beregnet til in vitro diagnostisk (IVD) brug.

RESUMÉ OG FORKLARING

I eukaryote celler reguleres kontrollen over celledelingscyklussen af et komplekst mønster bestående af kontrolleret ekspression og post-translationelle ændringer af proteiner, der regulerer celleyklusen. p16^{INK4a}-proteinet spiller en stor rolle i denne mekanisme til regulering af den eukaryotiske celleyklus. Det er en del af retinoblastomproteinets (pRB) medierede kontrol over G1/S-faseovergangen, og det udløser standsning af celleyklusen i løbet af de cellulære differentieringsprocesser. Derfor sikrer p16^{INK4a} en anti-proliferativ effekt under almindelig celleyklusprogression.¹ Ved terminalt differentierede epitelceller nedreguleres p16^{INK4a}-ekspression til niveauer, som typisk ikke kan detekteres ved immuncytokemi (ICC).²

Ved cervikal dysplasi anses overekspression af p16 for at være en surrogatbiomarkør for transformation af HPV-infektioner, som afspejler aktivering af HPV E6/E7-onkoproteinforårsaget celleproliferation.^{2,3,4,5} Detektion af p16 i cervikale cytologi præparater er blevet foreslået som en nyttig supplerende markør til triage af kvinder med unormale Pap-cytologieresultater og positive HPV-testresultater.^{3,4,5} Da der kan observeres p16-specifik farvning i individuelle metaplastiske eller endocervikale celler, hvori p16 kan blive udtrykt til at udvise sin fysiologisk normale, væksthæmmende cellulære funktion, forudsætter fortolkning af p16-enkeltfarvede cervikale cytologi præparater dog identifikation af p16-immunreaktive celler og yderligere klassifikation af disse celler med hensyn til tegn på morfologiske abnormiteter.^{2,3,4}

Den kombinerede samtidige detektion af p16 og proliferationsmarkøren Ki-67 i samme celle ved ICC har vist sig at være et nyttigt værktøj til identifikation af dysplastiske cervikale celler i cytologi præparater uden behov for morfologisk fortolkning.^{3,7,8} Ki-67 er et nukleært og nukleolært protein, som kun er associeret med celleproliferation og ikke kan detekteres ved hjælp af standardimmunfarvningsmetoder i hvilende celler (G0-celler).⁶ Under normale fysiologiske forhold udelukker ekspression af det proliferationsassocierede protein Ki-67 det antiproliferative protein p16. I modsætning hertil kan celler, hvor den retinoblastomproteinmedierede (pRB-medierede) vej, som regulerer celleyklusprogressionen, afbrydes opstrøms for p16-proteinets tumorsuppressorfunktion (f.eks. i epitelceller, der udtrykker højrisiko-HPV E6/E7-onkoproteinerne), formere sig og derved muligvis udtrykke Ki-67 ved forekomst af funktionelt p16.^{2,3}

Detektion af individuelle celler i cervikale cytologi præparater, som udtrykker p16 og Ki-67 samtidigt, kan derfor være en morfologiuafhængig indikator for celler med

celleyklusdysregulering. Denne samtidige ekspression af p16 og Ki-67 kan anvendes som indikator for tilstedeværelsen af transformerende HPV-infektion og underliggende cervikal intraepitellial neoplasie.^{2,3} I en række nyere undersøgelser evalueres den potentielle værdi og lægefaglige anvendelighed af p16Ki-67-dobbeltfarvet cytologi til identifikation af kvindelige patienter, der kan få gavn af at blive henvist til colposkopi ud fra resultaterne af diverse primære screeninger for cervikal cancer. Disse resultater inkluderer triage af kvinder med Pap-cytologieresultater, som viser Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) eller Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), kvinder, som har høj risiko for at være HPV-positive ved primær HPV-screening, og kvinder, som er Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM)/HPV-positive i kliniske sammenhænge, hvor der anvendes Pap-cytologi/samtidig HPV-test ved primær screening.⁷⁻²⁵

PROCEDURENS PRINCIP

CINtec PLUS Cytology Kit indeholder et sæt reagenser til samtidig immuncytokemisk detektion af p16^{INK4a}- og Ki-67-proteinerne i cytologiske præparater fra cervix uteri. Proteinerne detekteres ved hjælp af en brugsklar cocktail af primære monoklonale antistoffer, der indeholder et rekombinant monoklonalt museantistof, som er rettet mod humant p16^{INK4a}-protein (klonen E6H4TM), og et primært rekombinant kaninantistof, som er rettet mod humant Ki-67-protein (klonen 274-11AC3V1). Efter celleforbehandling, hæmning af endogen peroxidaseaktivitet og inkubation med cocktailen af primære antistoffer anvendes der i analysen to brugsklare detektionssystemer, der er optimeret til brug til cervikale cytologi præparater:

- Et sekundært anti-mus-antistof fra ged, der er kovalent bundet til HQ-haptener (proprietært haptent), og et anti-HQ-haptent, peberrodspoxidasekonjugeret (HRP-konjugeret) tertiært antistof, som er optimeret til detektion af den monoklonale museantistofklon E6H4;
- Et sekundært anti-kanin-antistof fra ged, der er kovalent bundet til NP-haptener (proprietært haptent), og et anti-NP-haptent, alkalisk phosphatasekonjugeret (AP-konjugeret) tertiært antistof, som er optimeret til detektion af den rekombinante kaninantistofklon 274-11AC3V1.

De kromogene reaktioner er baseret på den HRP-medierede konvertering af 3,3'-diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB) og den AP-medierede konvertering af Fast Red med Naphthol Phosphate, hvilket medfører henholdsvis en brun udfældning på p16^{INK4a}-antigenstedet og en rød udfældning på Ki-67-antigenstedet.

Efter automatiseret kontrastfarvning og blåning følges en monteringsprocedure med to trin. Først monteres objektglasset ved hjælp af et vandigt monteringsmateriale. Derefter forsynes objektglasset med et dækglass ved hjælp af et permanent monteringsmateriale. Farvningsresultatet inspiceres ved lysmikroskopi.

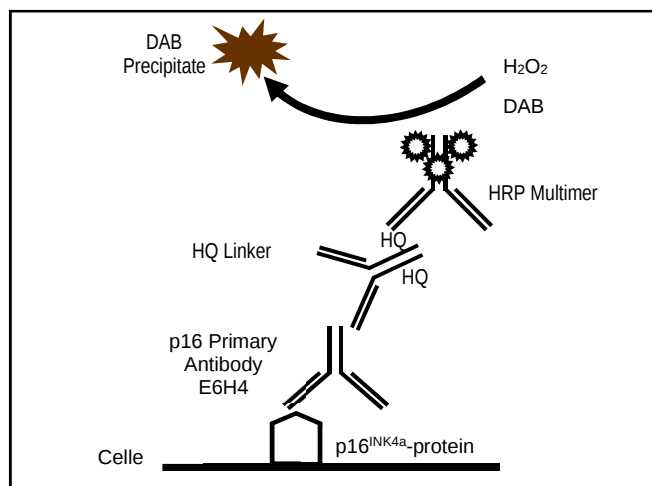


Fig. 2. Detektion af humant p16^{INK4a}-protein.

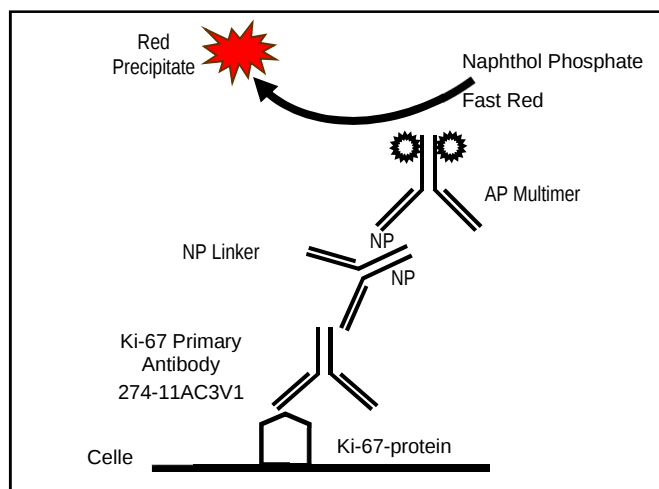


Fig. 3. Detektion af humant Ki-67-protein.

LEVERET MATERIALE

CINtec PLUS Cytology Kit indeholder tilstrækkeligt reagens til 100 tests.

Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) indeholder en cocktail af rekombinant monoklonal museantistofklon E6H4, som er rettet mod humant p16 ^{INK4a} -protein, og primær rekombinant kaninantistofklon 274-11AC3V1, som er rettet mod humant Ki-67-protein (< 5 µg/mL samlet mængde antistof), i en buffer indeholdende protein med ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker indeholder NP-mærket anti-kanin-IgG fra ged (< 10 µg/mL; NP er et patentbeskyttet hapten, der er kovalent bundet til gedeantistoffet) i en buffer med protein og ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer indeholder et monoklonalt AP-mærket tertiært anti-NP-museantistof (< 20 µg/mL) i en buffer med protein og ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate indeholder Naphthol Phosphate (< 1 %) og ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology Fast Red indeholder Fast Red (< 1 %) i en acetatbuffer med ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor indeholder en brintoverilteopløsning (< 5 %).
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker indeholder HQ-mærket anti-muse-IgG fra ged (< 40 µg/mL; HQ er et patentbeskyttet hapten, der er kovalent bundet til gedeantistoffet) i en buffer med protein og ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer indeholder et tertiært monoklonalt anti-HQ-mærket HRP-museantistof (< 10 µg/mL) i en buffer med protein og ProClin 300-konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology DAB indeholder 3,3'-diaminobenzidintetrahydrochlorid (< 1 %) i en patentbeskyttet stabilisatoropløsning med et patentbeskyttet konservingsmiddel.
Én 10 mL-dispenser	CINtec PLUS Cytology DAB H ₂ O ₂ indeholder brintoverilte (< 1 %) i en fosfatbufferopløsning.

REKONSTITUTION, BLANDING, FORTYNDING OG TITRERING

CINtec PLUS Cytology Kit er optimeret til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. Ingen rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af kitreagenser er nødvendig.

Afgivelser fra de anbefalede procedurer for fiksering og videre behandling af cervikale cytologiske præparater kan medføre en signifikant variabilitet i resultaterne, hvilket kræver regelmæssige interne kontroller.

Du kan få yderligere oplysninger om kontroller i afsnittet Kvalitetskontrol.

NØDVENDIGE MATERIALER, SOM IKKE MEDFØLGER

Farvereagenser såsom VENTANA-detektionskits og hjælpekomponenter, herunder objektglas med negative og positive kontrolvæv, medfølger ikke.

Det er ikke alle produkter, der er nævnt i metodearket, som kan fås i alle geografiske områder. Indhent oplysninger hos den lokale supportrepræsentant.

Nedenstående reagenser og materialer er påkrævet ved farvning, men medfølger ikke i detektionskittet:

1. Relevante kontroller (valgfri – se afsnittet Kvalitetskontrol)
2. Hematoxylin Counterstain (kat.nr. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (kat.nr. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat.nr. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat.nr. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (kat.nr. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat.nr. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (kat.nr. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (kat.nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (kat.nr. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol denatureret (renhed ≥ 95 %)
12. BenchMark IHC/ISH-instrument
13. Superfrost Plus-objektglas til mikroskop (Thermo Fisher Scientific) til konventionelle udstrygninger anbefales
14. ThinPrep Arcless mikroskopobjektglas (Hologic REF 70126-002) eller Superfrost Plus mikroskopobjektglas (VWR REF 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (REF 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic REF 234004)
17. BD SurePath PreCoat objektglas (inkluderet i SurePath GYN-kittet)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD REF 490522)
19. CC/Mount vandigt monteringsmateriale (Roche REF 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Valgfrit: Tørreovn, der kan opretholde en temperatur på 60 °C ± 5°
21. Generelt laboratorieudstyr

OPBEVARING OG STABILITET

Opveares ved 2–8 °C efter modtagelsen, og når de ikke anvendes. Må ikke nedfryses. Brugerens skal validere eventuelle andre opbevaringsbetingelser end dem, der er specificeret på metodearket. Dette detektionskit kan anvendes umiddelbart efter udtagning fra køleskab.

For at sikre korrekt reagenstilførsel og -stabilitet skal kapslen sættes på dispenseren igen efter hver brug, og dispenserne skal omgående anbringes i køleskab i opret position.

Alle detektionskit er mærket med udløbsdato. Ved korrekt opbevaring er produktet stabilt indtil den dato, der er angivet på etiketten. Brug ikke produktet efter udløbsdatoen for den anviste opbevaringsmetode. Der er ingen endegyldige tegn, der indikerer ustabilitet af dette produkt. Derfor bør der køres en positiv kontrol samtidigt med ukendte præparater. Din lokale supportrepræsentant skal straks kontaktes, hvis der er tegn på reagensustabilitet.

ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

1. Til in vitro diagnostisk (IVD) brug.
2. Kun til faglig anvendelse.
3. Brug ikke efter det angivne antal tests.
4. Brug ikke produktet, hvis nogen del af emballagen er beskadiget. Hvis emballagen eller komponenterne er beskadiget, bedes du kontakte din lokale supportrepræsentant straks.

- ProClin 300 er brugt som konserveringsmiddel i denne opløsning. Det er klassificeret som lokalirriterende og kan forårsage overfølsomhed ved hudkontakt. Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering. Undgå, at reagenset kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Bær beskyttelsestøj og handsker.
- Materialer af human eller animalsk oprindelse skal håndteres som potentielt biologisk farligt materiale og bortskaffes i henhold til gældende forholdsregler. I tilfælde af eksponering skal de ansvarlige myndigheders sundhedsdirektiver følges.^{26,27}
- Der skal tages rimelige forholdsregler ved håndtering af reagenser. Undgå, at reagenset kommer i berøring med øjne, hud og slimhinder. Undgå indånding af reagenser. Brug engangshandsker og brug passende beskyttelsestøj, når du håndterer mistænkt kræftfremkaldende stoffer eller toksiske materialer.
- Vask med rigelige mængder vand, hvis reagenserne kommer i kontakt med følsomme områder.
- Undgå mikrobiel kontamination af reagenserne, da det kan forårsage fejlbehæftede resultater.
- For yderligere information om brugen af denne enhed henvises til BenchMark IHC/ISH-instrumentets brugervejledning og brugsanvisningerne til alle nødvendige komponenter, som findes på navifyportal.roche.com.
- Indhent oplysninger hos lokale og/eller statslige myndigheder vedrørende den anbefalede metode til bortskaffelse.
- Ved håndtering og bortskaffelse af cytologiske præparater, herunder alle prøver før og efter fiksering, samt alle materialer, der eksponeres for dem, skal man sørge for at overholde sikkerhedsforanstaltningerne for håndtering af potentielt infektiøst materiale samt gældende krav til affaldsbortskaffelse.
- Mærkning af produktsikkerhed følger primært EU's GHS-vejledning. Sikkerhedsdatablade er tilgængelige efter anmodning for faglige brugere.
- For at rapportere mistanke om alvorlige hændelser i forbindelse med denne enhed, skal du kontakte den lokale Roche-repræsentant og den kompetente myndighed i den medlemsstat eller det land, hvor brugeren har etableret sig.

Dette detektionskit indeholder komponenter klassificeret som følger i henhold til Forordning (EU) nr. 1272/2008:

Tab. 1. Fareoplysninger.

Fare	Kode	Sætning
	H317	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
	H350	Kan være kræftfremkaldende.
	H412	Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
	P201	Indhent særlige anvisninger før brug.
	P261	Undgå at indånde tåge eller dampe.
	P273	Undgå udledning til miljøet.
	P280	Bær beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørebeskyttelse.
	P308 + P313	Ved eksponering eller mistanke herom: Søg læge.
	P333 + P313	Ved hudirritation eller udslet: Søg læge.

Dette produkt indeholder CAS-numrene:

- 868272-85-9: 3,3'-Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid-hydrat
- 2682-20-4: 2-methyl-2H-isothiazol-3-one
- 55965-84-9, som er en reaktionsmasse af: 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1)

PRÆPARATFORBEREDELSE

Cytologiske præparater skal håndteres korrekt med henblik på opbevaring til immuncytokemiske procedurer. Standardmetoderne for cellebehandling skal anvendes på alle præparater.

For at undgå at skjule elementer som blod og slim og sikre en prøve, der er tilstrækkelig i henhold til Bethesda Guidelines²⁸, bør lægerne følge de anbefalede prøvetagningsteknikker.

Følgende metoder til klargøring af objektglas er velegnet til brug med CIntec PLUS Cytology Kit:

- ThinPrep (Hologic Inc.) objektglas, der er klargjort på en ThinPrep 2000 eller 5000 Processor (Hologic Inc.) ved hjælp af ThinPrep Arcless Microscope objektglas eller Superfrost Plus objektglas i henhold til producentens anbefaling;
- BD SurePath (BD Diagnostics) objektglas, der er klargjort i henhold til producentens anbefaling.
- Manuelt klargjorte objektglas (til konventionelle udstrygninger)

Det anbefales at køre de relevante kontroller samtidig med patientpræparaterne (se afsnittet Kvalitetskontrol).

Prøveklargøring med Roche Cell Collection Medium

Cytologiske prøver indsamlet af en sundhedspersonale og resuspenderet i Roche Cell Collection Medium (RCCM) beregnet til immuncytokemisk farvning med CIntec PLUS Cytology Kit kan opbevares ved 15–30 °C i 6 uger og derefter yderligere 12 uger ved 2–8 °C.

Der skal anvendes objektglas af typen ThinPrep Arcless Microscope eller Superfrost Plus til immuncytokemisk farvning med CIntec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Klargøring af objektglas fra prøver taget med Roche Cell Collection Medium og ThinPrep 2000 Processor

Objektglas klargøres fra prøver taget med Roche Cell Collection Medium og ThinPrep 2000 Processor. Når ThinPrep 2000 Processor-sekvensen er udført, hviler det behandlede objektglas i et fikseringshætteglas med en ethanolopløsning på ≥ 95 % af reagenskvalitet. Tag hætteglasset op af fikseringsbadholderen i ThinPrep 2000 Processor, og sæt det behandlede objektglas i en objektglasholder fyldt med en ethanolopløsning på ≥ 95 % af reagenskvalitet. Inkuber objektglasset/-ene i ethanol i minimum 15 minutter, maksimum 60 minutter. Udskift ethanolopløsningen i fikseringshætteglasset og objektglasopsamlere efter hvert 20. klargjorte objektglas. Fjern objektglasset/-ene fra ethanolopløsningen, når inkubationstiden er færdig, og lad det/dem tørre vandret på et fladt underlag i mindst 60 minutter. Tørrede objektglas kan opbevares ved stuetemperatur og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CIntec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring.

Klargøring af objektglas fra prøver taget med Roche Cell Collection Medium og ThinPrep 5000 Processor

Objektglas klargøres fra prøver taget med Roche Cell Collection Medium og ThinPrep 5000 Processor. Når ThinPrep 5000 Processor-sekvensen er udført, hviler de behandlede objektglas i en objektglasholder nedsænket i en ethanolopløsning på ≥ 95 % af reagenskvalitet med fikseringsbad. Fjern fikseringsbadet eller objektglasopsamlere fra ThinPrep 5000 Processor, og inkuber objektglassene i yderligere minimum 15 minutter, maksimum 60 minutter. Udskift ethanolopløsningen i objektglasopsamlere efter hver kørsel. Fjern objektglassene fra ethanolopløsningen, når inkubationstiden er færdig, og lad dem tørre vandret på et fladt underlag i mindst 60 minutter. Tørrede objektglas kan opbevares ved stuetemperatur og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CIntec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring.

Fjern den oprindelige etiket på det objektglas, der anvendes i ThinPrep 5000 Processor, før der udføres immuncytokemisk farvning med CIntec PLUS Cytology Kit.

Prøveklargøring med PreservCyt

Cytologisk prøve i PreservCyt Solution (PC) beregnet til immuncytokemisk farvning med CIntec PLUS Cytology Kit kan opbevares ved 15–30 °C i 6 uger og derefter yderligere 12 uger ved 2–8 °C.

Der skal anvendes objektglas af typen ThinPrep Arcless Microscope eller Superfrost Plus til immuncytokemisk farvning med CIntec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter.

Slide Preparation fra prøver taget med PreservCyt og ThinPrep 2000 Processor
Objektglas klargøres fra cytologiske prøver indsamlet af en sundhedspersonale og resuspenderet i PreservCyt med ThinPrep 2000 Processor. Når ThinPrep 2000 Processor-sekvensen er udført, hviler det behandlede objektglas i et fikseringshætteglas med en ethanolopløsning på ≥ 95 % af reagenskvalitet. Tag hætteglasset op af fikseringsbadholderen i ThinPrep 2000 Processor, og sæt det behandlede objektglas i en objektglasholder fyldt med en ethanolopløsning på ≥ 95 % af reagenskvalitet. Inkuber

objektglasset/-ene i ethanol i minimum 15 minutter, maksimum 60 minutter. Udskift ethanolopløsningen i fikseringshætteglasset og objektglasopsamlere efter hvert 20. klargjorte objektglas. Fjern objektglasset/-ene fra ethanolopløsningen, når inkubationstiden er færdig, og lad det/dem tørre vandret på et fladt underlag i mindst 60 minutter. Tørrede objektglas kan opbevares ved 15–30 °C og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CINtec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring. Slide Preparation fra prøver taget med PreservCyt og ThinPrep 5000 Processor Objektglas klargøres fra cytologiske prøver indsamlet af en sundhedspersonale og resuspenderet i PreservCyt med ThinPrep 5000 Processor. Når ThinPrep 5000 Processor-sekvensen er udført, hviler de behandlede objektglas i en objektglasholder nedsænket i en ethanolopløsning på $\geq 95\%$ af reagenskvalitet med fikseringsbad. Fjern fikseringsbadet eller objektglasopsamlere fra ThinPrep 5000 Processor, og inkuber objektglassene i yderligere minimum 15 minutter, maksimum 60 minutter. Udskift ethanolopløsningen i objektglasopsamlere efter hver kørsel. Fjern objektglassene fra ethanolopløsningen, når inkubationstiden er færdig, og lad dem tørre vandret på et fladt underlag i mindst 60 minutter. Tørrede objektglas kan opbevares ved stuetemperatur og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CINtec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring.

Fjern den oprindelige etiket på det objektglas, der anvendes i ThinPrep 5000 Processor, før der udføres immuncytokemisk farvning med CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøveklargøring med BD SurePath

Cytologiske prøver indsamlet af en sundhedspersonale og resuspenderet i SurePath Preservative Fluid beregnet til immuncytokemisk farvning med CINtec PLUS Cytology Kit kan opbevares ved 15–30 °C i op til 4 uger og derefter ved 2–10 °C i yderligere 6 måneder.

Slide Preparation BD SurePath umiddelbart efter behandling af et Pap-objektglas Når der er lavet en beriget cellepille til klargøring af et objektglas til Pap-farvning, kan den anvendes med det samme til klargøring af et sekundært objektglas, som skal farves med CINtec PLUS Cytology Kit. Følg producentens anbefaling om brug af "Slide Preparation" (Klargøring af objektglas) [valgmulighed 2] til GYN-prøver på PrepStain™-instrumentet. Resuspensionsvolumenen skal ændres til 0 mL under menupunktet »Change Sample/Stain Parameters« (Skift prøve-/farvningsparametre).

Slide Preparation BD SurePath ud fra en konserveret cellepille

Berigede cellepiller kan konserveres ved at tilføje cirka 2 mL SurePath Preservative Fluid og sætte låg på prøverørerne med henblik på opbevaring (se producentens anvisninger). Fra konserveringsdatoen kan cellepiller, der er resuspenderet i konserveringsmiddel, opbevares ved 15–30 °C i op til 4 uger eller i køleskab ved 2–10 °C i 6 måneder. Objektglas klargøres til CINtec PLUS Cytology Kit ved først at opvarme prøven til stuetemperatur i løbet af 60 minutter. Start med det andet centrifugeringsstrin i GYN-berigelsesprocessen, og fortsæt med de resterende forbehandlingsstrin i henhold til producentens anvisninger vedrørende genbehandling af konserverede cellepiller. Følg producentens anbefaling om brug af »Slide Preparation« (Klargøring af objektglas) [valgmulighed 2] til GYN-prøver på PrepStain-instrumentet.

For alle ovenstående klargøringsvalgmuligheder skal objektglasholderen fjernes fra PrepStain-instrumentet, når prøveoverførselstrinnet er udført. Vend holderen på hovedet for at hælde væsken fra objektglassene. Pipetter 2 mL ethanolopløsning på $\geq 95\%$ af reagenskvalitet til hvert sedimentationskammer, og hæld straks. Skyl igen med 2 mL ethanolopløsning på $\geq 95\%$ af reagenskvalitet, og inkuber i 10 minutter. Hæld igen ved at vende holderen på hovedet. Fjern sedimentationskammerne fra objektglassene, og læg glassene til at tørre vandret på et fladt underlag i mindst 60 minutter. Tørrede objektglas kan opbevares ved stuetemperatur og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CINtec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring.

Brug af konventionelle udstrygninger

Konventionelle udstrygninger skal fikseres med en cytologisk fikseringsreagensspray med polyethylenglykol (f.eks. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) straks efter prøvetagning. Sprayfikserede objektglas med konventionelle udstrygninger kan opbevares ved stuetemperatur og beskyttet mod direkte sollys og skal farves med CINtec PLUS Cytology Kit inden for 7 dage efter klargøring.

Der kræves ingen yderligere forbehandling før isætning af objektglas på BenchMark IHC/ISH-instrumentet.

FARVNINGSPROCEDURE

CINtec PLUS Cytology Kit er udviklet til brug på BenchMark IHC/ISH-instrumenter i kombination med VENTANA-hjælpereagenser og -tilbehør.

CINtec PLUS Cytology Kit er optimeret med parametrene i tabel 2, 3 og 4, og brugeren skal validere resultaterne fra dette kit.

Parametrene for de automatiserede protokoller kan vises, udskrives og redigeres ved at følge anvisningerne i brugervejledningen til instrumentet.

Tab. 2. Anbefalet farvningsprotokol for klargjorte objektglas af typen ThinPrep og SurePath samt objektglas med konventionelle udstrygninger på BenchMark GX-instrumentet.

Farvningsprocedure	GX CINtec PLUS Cytology		
Valgmuligheder	Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konventionel
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Andet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning Option	Ikke tilgængelig	Ikke tilgængelig	16 min.
Inkubationstid for antistof	16 min.	20 min.	16 min.
HQ Linker Inc-tid	12 min.	16 min.	12 min.
HRP Multimer Inc-tid	6 min.	8 min.	8 min.
NP Linker Inc-tid	8 min.	16 min.	8 min.
AP Multimer Inc-tid	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
Bluing	4 min.	4 min.	4 min.

Tab. 3. Anbefalet farvningsprotokol til klargjorte ThinPrep, SurePath og objektglas med konventionelle udstrygninger på BenchMark XT-instrumentet.

Farvningsprocedure	XT CINtec PLUS Cytology		
Valgmuligheder	Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konventionel
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Andet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning Option	Ikke tilgængelig	Ikke tilgængelig	16 min.
Inkubationstid for antistof	16 min.	20 min.	16 min.
HQ Linker Inc-tid	12 min.	16 min.	12 min.
HRP Multimer Inc-tid	8 min.	8 min.	8 min.
NP Linker Inc-tid	8 min.	16 min.	8 min.
AP Multimer Inc-tid	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
Bluing	4 min.	4 min.	4 min.

Tab. 4. Anbefalet farvningsprotokol for klargjorte ThinPrep, SurePath og konventionelle objektglas på BenchMark ULTRA- eller BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet.

Farvningsprocedure	U CINtec PLUS Cytology		
Valgmuligheder	Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konventionel
ThinPrep	Valgt	Ikke valgt	Ikke valgt
SurePath	Ikke valgt	Valgt	Ikke valgt
Andet	Ikke valgt	Ikke valgt	Valgt
Cell Conditioning Option	Ikke tilgængelig	Ikke tilgængelig	16 min.
Inkubationstid for antistof	16 min.	16 min.	16 min.
HQ Linker Inc-tid	12 min.	16 min.	12 min.
HRP Multimer Inc-tid	8 min.	8 min.	8 min.
NP Linker Inc-tid	8 min.	16 min.	8 min.
AP Multimer Inc-tid	8 min.	8 min.	8 min.
Hematoxylin	8 min.	8 min.	8 min.
Bluing	4 min.	4 min.	4 min.

EFTERBEHANDLINGSPROCEDURE – VANDIG MONTERING OG DÆKGLASMONTERING

For at opretholde optimal sensitivitet og forhindre udtoning af kromogener anvendes en monteringsprocedure på to trin.

Fjern objektglassene fra BenchMark IHC/ISH-instrumentet, ryst dem forsigtigt, og skyl dem med rent hanevand, deioniseret eller destilleret vand og et mildt opvaskemiddel, indtil de er helt fri for LCS.

BEMÆRK: Lad ikke vandet løbe direkte oven på objektglassene. Skru helt ned for vandet.

Objektglassene monteres ifølge en totinsprocedure, og følgende trin skal udføres i rækkefølge:

Vandig montering:

1. Inkuber objektglassene i destilleret eller deioniseret vand i mindst 1 minut.
2. Objektglas, der ikke skal forsynes med dækglass, skal forblive i destilleret eller deioniseret vand, mens det vandige CC/Mount-materiale monteres på de øvrige objektglas.
3. Tag ét objektglas op af det destillerede eller deioniserede vand, og tør forsigtigt overskydende vand af bagsiden af objektglasset af med et stykke køkkenrulle. Undlad at hælde væske ud eller aftørre vand på objektglassets forside (prøvesiden).
4. Hold objektglasset let på skrå, og tilsæt 4–6 dråber vandigt CC/Mount-monteringsmateriale pr. ThinPrep- eller SurePath-objektglas og 8 dråber pr. objektglas med konventionelle udstrygninger. Sørg for, at der ikke dannes luftbobler. For at undgå dannelse af luftbobler kan den første dråbe afgives på en serviet, før der tilsættes CC/Mount på objektglassets prøveforberedelse.
5. Vip og roter objektglasset forsigtigt for at danne et tyndt lag monteringsmateriale, som helt dækker prøveforberedelse (vent med at montere dækglass eller -film). Inspicer fordelingen af monteringsmateriale på objektglasset.
6. Tør overskydende vandigt CC/Mount-monteringsmateriale af bagsiden og kanterne af objektglasset. Brug eventuelt en våd serviet.
7. Læg de klargjorte objektglas til tørring i vandret stilling.
 - Inkuber de klargjorte ThinPrep- eller SurePath-objektglas ved 37–60 °C i 1 time eller over natten ved stuetemperatur.
 - Inkuber objektglassene med konventionelle udstrygninger ved 37 °C i 4 timer, 60 °C i 1 time eller over natten ved stuetemperatur.

Montering af dækglass eller -film:

1. Når den vandige CC/Mount-montering er tørret, stilles objektglassene eventuelt til akklimatisering i forhold til stuetemperatur. Inkuber objektglassene i xylen i minimum 1 minut, maksimum 20 minutter. Derefter monteres dækglass eller -film på objektglassene ved hjælp af et xylenbaseret monteringsmateriale eller metoden til montering af xylenbaseret dækglass.

BEMÆRK: Objektglassene må ikke dehydreres af en stigende række alkoholer, før de tildækkes med glas eller film.

2. Lad det xylenbaserede monteringsmateriale tørre ved stuetemperatur.

BEMÆRK: For at minimere udtoning skal objektglassene beskyttes mod lys og opbevares ved stuetemperatur.

KVALITETSKONTROL

Afvisninger fra de anbefalede procedurer for fiksering og videre behandling af cervikale cytologiske præparater kan medføre en signifikant variabilitet i resultaterne. Funktionsfejl i produktet på grund af håndteringsproblemer eller ustabilitet fremgår ikke tydeligt. Derfor bør relevante kontroller udføres samtidig med patientpræparaterne.

Positiv kontrol

Præparater, der er behandlet på samme måde som patientpræparaterne, skal bruges som positive kontroller. Positive kontroller er tegn på korrekt klargjorte præparater og farvningsteknikker. Der skal inkluderes én positiv kontrol for hver farveekørsel.

Kendte positive kontroller må kun benyttes til overvågning af præstationen af behandlede præparater og testreagenser, frem for som hjælp til at formulere en specifik diagnose for patientprøver. Hvis de positive kontroller ikke fremviser passende positiv farvning, skal resultater med testpræparaterne anses for ugyldige.

Negative Control

En række forskellige celletyper, som findes i repræsentative cervikale cytologiske præparater, og som vides at være negative for ekspresion af p16^{INK4a}- og Ki-67-antigener (såsom overfladiske celler), kan anvendes som intern negativ kontrol til vurdering af baggrundsfarvning.

Analyseverifikation

Brugeren skal verificere præstationen af CINtec PLUS Cytology Kit på positive og negative præparater med kendte præstationskarakteristika, inden det bruges første gang i en diagnostiseringsprocedure.

FORTOLKNING AF FARVNINGEN / FORVENTEDE RESULTATER

CINtec PLUS Cytology Kit-farvningsproducenterne to distinkte farvede reaktionsprodukter: en brun udfældning ved p16^{INK4a}-antigenstederne og en rød udfældning ved Ki-67-antigenstederne. Brun cellefarvning (cytoplasma og/eller cellekerne) angiver p16^{INK4a}-overekspression. Rød cellekernefarvning angiver Ki-67-ekspression. Celler, der er farvet for begge antigener udviser brun cytoplasmisk farvning, typisk med fremhævet rød cellekerne. En kvalificeret patolog/cytoteknolog med erfaring i immuncytokemiske procedurer og fortolkning af CINtec PLUS Cytology Kit-farvede objektglas skal evaluere kontroller, før resultaterne fortolkes.

Testresultaterne må kun fortolkes af en fagperson på baggrund af patientens anamnese og resultaterne af eventuelle andre udførte diagnostiske tests.

Ved fortolkning af resultater for cervikale cytologiobjektglas, som er farvet med CINtec PLUS Cytology Kit, skal objektglassene evalueres med hensyn til tilstedeværelsen af cervikale epitelceller, der viser både cytoplasmisk brun og nuklear rød farvning, der indikerer samtidig p16^{INK4a}- og Ki-67-ekspression. Ligesom det er tilfældet ved rapportering af Pap-cytologiresultater, skal præparaterne desuden vurderes med hensyn til prøvetilstrekkelighed i henhold til Bethesda Guidelines 2015 (eller TBS)²⁸ ved rapportering af CINtec PLUS Cytology Kit-testresultatet.

Positivt testresultat

Tilstedeværelsen af en eller flere cervikale epitelceller med samlokalisering af specifik brun cytoplasmisk immunfarvning og specifik rød cellekerneimmunfarvning inden for samme celle anses for at være et positivt CINtec PLUS Cytology Kit-testresultat uanset cytomorfologiske træk.

Negativt testresultat

Hvis ingen af de cervikale epitelceller viser nogen samtidig brun cytoplasmisk immunfarvning og rød cellekernefarvning, anses CINtec PLUS Cytology Kit-testresultatet for at være negativt.

Tilstedeværelsen af cervikale epitelceller, der kun viser immunreaktivitet for én, men ikke begge markører (såsom brun farvning kun for p16^{INK4a} eller rød farvning kun for Ki-67), betragtes ikke som et positivt testresultat for CINtec PLUS Cytology Kit.

SPECIFIKKE BEGRÆNSNINGER

1. Kun til faglig anvendelse. Immuncytokemiske procedurer kræver speciel farvning.
2. Evaluering af mikroskopobjektglas farvet med CINtec PLUS Cytology Kit må kun udføres af en fagperson med erfaring i fortolkning af disse testresultater.
3. Den kliniske fortolkning af enhver positiv eller negativ farvning skal evalueres på baggrund af klinisk repræsentation og cytologiske kriterier.
4. Fortolkningen af CINtec PLUS Cytology Kit-farvningsresultater afhænger af intensiteten og kvaliteten af hematoxylinkontrastfarvningen. Afgivelsen fra de anbefalede reagenser og inkubationstider kræver validering af kunden, da for kraftig eller ufuldstændig kontrastfarvning kan forstyrre fortolkning af resultater.
5. Cervikale præparater viser ofte synlige mængder af helblod. Hvis koncentrationen af helblod overstiger 1.0 %, skal præparatet lyses med iseddikesyre (GAA) i henhold til ThinPrep-protokollen før klargøring af objektglas.
6. Objektglas med konventionelle udstrygninger, der skal bruges til farvning med CINtec PLUS Cytology Kit, skal klargøres med Superfrost Plus-mikroskopobjektglas og Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), en cytologisk fikseringsreagensspray med polyethylenglycol. Afgivelse fra denne anbefaling skal godkendes af kunden.
7. Det anbefales ikke at bruge ThinPrep 3000 Processor til klargøring af ThinPrep-prøver, da instrumentets sprayfiksering kan medføre markant celletab, når de klargjorte objektglas farves ved hjælp af CINtec PLUS Cytology Kit.
8. Der skal anvendes objektglas af typen ThinPrep Arcless Microscope eller ThinPrep Microscope Slides til specialbehandling eller Superfrost Plus-mikroskopobjektglas til klargøring af ThinPrep-prøver til immuncytokemisk farvning med CINtec PLUS Cytology Kit på BenchMark IHC/ISH-instrumenter. ThinPrep-mikroskopobjektglas med præget screeningområde kan give inkonsistente farvningsresultater.
9. Producenten leverer disse antistoffer/reagenser ved optimal fortynding til brug ved immuncytokemisk testning af klargjorte væskebaserede cytologiobjektglas (LBC) i henhold til de medfølgende anvisninger. Enhver afgivelse fra de anbefalede testprocedurer kan gøre de forventede resultater ugyldige. Relevante kontroller bør anvendes og dokumenteres. Brugere, der afviger fra de anbefalede testprocedurer, skal påtage sig ansvaret for fortolkning af patientresultater under disse omstændigheder.
10. Alle analyser er ikke nødvendigvis registreret på alle instrumenter. Kontakt den lokale Roche-repræsentant for yderligere oplysninger.

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

ANALYTISK YDEEVNE

Resultaterne med CINtec PLUS Cytology Kit blev evalueret via analytisk reproducerbarhed og andre relevante undersøgelser.

Analytisk sensitivitet og specificitet

Analytisk sensitivitet og specificitet for de primære antistoffer p16 og Ki-67 blev testet i analyser med Western-blot og peptidhæmning.

Analyser med Western-blot anvendte lysater fra cellelinjer, der repræsenterede en række forskellige farvningsintensiteter. Anti-p16^{INK4a}-antistof (E6H4) var i stand til at detektere et bånd på ca. 15-20 kD i det oprensede rekombinante p16^{INK4a}-proteinpræparat. Endvidere bandt antistoffet specifikt til oprenset rekombinant p16^{INK4a}-protein og ikke til en ækvivalent mængde ikke-relateret rekombinant protein. Antistoffet blev også påvist at binde endogent p16^{INK4a}-protein udtrykt i lysater afledt af cellelinjerne HeLa, SK Mel 28 og DU145 og ikke i den p16^{INK4a}-negative cellelinje MDA MB 231. De relative niveauer af p16^{INK4a}-protein påvist i lysater fra alle fire cellelinjer på Western Blot svarede til IHC-farvningsdata, hvilket viser sensitiviteten af anti-p16^{INK4a} (E6H4)-antistofdetektion. Ki-67-antistofklonbindingen (274-11AC3V1) blev testet i en Western Blot-analyse under anvendelse af helcellylsater fremstillet ud fra L428 (et Hodgkins lymfom, som var positivt for Ki-67-antigen; DSMZ ATCC 197) og LNCaP-cellelinjer (en prostatacarcinomcellelinje med lav ekspresion af Ki-67-protein; ATCC CRL-1740). Antistoffet var i stand til at detektere endogent Ki-67-protein i celleylsater, selv ved lave ekspressionsniveauer, og båndintensiteten stemte overens med IHC-farvning for Ki-67 i disse cellelinjer. Det primære Ki-67-antistof (274-11AC3V1) i CINtec PLUS Cytology Kit bandt til et oprenset rekombinant Ki-67-proteinfragment og ikke til en tilsvarende mængde ikke-relateret rekombinant negativ kontrol-protein. I denne analyse blev der ikke påvist binding i cellelinjen LNCaP med lav ekspresion af Ki-67. De relative niveauer af Ki-67-protein, der blev detekteret i lysater fra disse cellelinjer på

Western-blottet, stemmer overens med IHC-farvningsdata og mRNA-ekspressionsdata. Western-blottets resultater viser, at det primære Ki-67-antistof i CINtec PLUS Cytology Kit kan detektere endogent Ki-67-protein i celleylsater og rekombinant Ki-67-proteinfragment i oprenset form.

I peptidhæmningsanalyser blev der anvendt opløsninger, som indeholdt p16- eller Ki-67-specifikke peptider. Cocktailen med primært antistof blev fortyndet ved et volumen:volumen-forhold på 1:1 med p16-specifikke eller Ki-67-specifikke peptidopløsninger i forskellige koncentrationer over en række molare forhold: cirka 1-dobbelt, 10-dobbelt, 100-dobbelt, 1000-dobbelt og 10000-dobbelt molar forhøjelse af peptid sammenlignet med den endelige koncentration af antistof i opløsningen. Cocktailen med primært antistof, som indeholdt p16-specifikt peptid, blev brugt som uspecifik kontrol for anti-Ki-67-antistof, og et ikke-relateret Alk-a-peptid blev brugt som uspecifik kontrol for anti-p16-antistof. Et objektglas pr. præparat (tre præparatpuljer med cervikale cytologiske præparater og én med CaSki-celler) blev farvet med hver opløsning. Resultaterne af denne undersøgelse viste, at anti-p16-antistoffet specifikt binder p16-proteinet, og at anti-Ki-67-antistoffet specifikt binder Ki-67-proteinet. Som forventet blev p16- og Ki-67-farvningsintensiteterne reduceret i alle præparater efter farvning med opløsninger, der indeholdt de respektive specifikke peptider ved en koncentration på 1 M, fuldstændig hæmning blev opnået med opløsningerne, der indeholdt ≥ 10 M, og der blev ikke observeret nogen reduktion af p16-farvningsintensiteten med opløsninger, der indeholdt uspecifikt peptid eller intet peptid.

Gentagelighed og mellemprecision

Der blev udført præcisionsundersøgelser af CINtec PLUS Cytology Kit-farvning af ThinPrep-cervikale præparater for at påvise:

- Samlet præcision: Procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne, blev beregnet for hver af de 12 cervikale cytologiuljer (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC-puljer og 3 puljer med negative T24-cellelinjer) farvet med 3 lots af CINtec PLUS Cytology Kit i løbet af 5 ikke-sammenhængende dage og med 2 ens objektglas pr. pulje og evalueret af 3 læserteams.
- Dag til dag-præcision: Procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne, blev beregnet for hver dag (fra dag 1 til dag 5) ved samling af data fra de 12 cervikale cytologiuljer (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC-puljer og 3 puljer med negative T24-cellelinjer) med 3 lots af CINtec PLUS Cytology Kit med 2 ens objektglas pr. pulje og 3 læserteams.
- Lot til lot-præcision: Procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne, blev beregnet for hvert CINtec PLUS Cytology Kit-lot (lot 1-3) ved samling af data fra de 12 cervikale cytologiuljer (3 HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC-puljer og 3 puljer med negative T24-cellelinjer) i løbet af 5 ikke-sammenhængende dage med 2 ens objektglas og 3 læserteams.

Alle objektglas blev blindet og randomiseret og derefter evalueret i henhold til CINtec PLUS Cytology Kit-farvningsfortolkningen. Objektglas blev evalueret af tre læserteams, der hver især bestod af en cytotechnolog og en patolog. Resultaterne hos størstedelen af patologerne, eller resultatet på puljeniveau (positivt eller negativt), blev anvendt som reference til at bestemme procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne. Procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne, svarer til PPA, når størstedelen er positiv, og til NPA, når størstedelen er negativ. Resultaterne er sammenfattet i Tab. 5, Tab. 6 og Tab. 7. Alle konfidensintervaller (CI'er) var tosidede 95 %-konfidensintervaller. CI'er blev beregnet under anvendelse af percentil-bootstrap-metoden. I tilfælde, hvor pointestimatet var 100 %, blev Wilson-scoringsmetoden anvendt.

Tab. 5. Præcisionsundersøgelse inden for laboratorie – samlet præcision

Puljekategori	Antal evalueringer	Tilstand for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne	95 %-konfidensinterval
T24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	(98.6, 100.0)
NILM/HPV-	270	Negativ	94.1 %	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Positive	61.1 %	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Positive	93.3 %	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Positive	100.0 %	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Positive	98.9 %	(96.7, 100.0)

Tab. 6. Præcisionsundersøgelse inden for laboratorie – dag til dag-præcision

Puljekategori	Antal evalueringer	Tilstand for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne				
			Dag 1	Dag 2	Dag 3	Dag 4	Dag 5
T-24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	88.9 %	90.7 %	98.1 %	98.1 %	94.4 %
NILM/HPV+	90	Positive	44.4 %	50.0 %	77.8 %	66.7 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positive	94.4 %	88.9 %	88.9 %	94.4 %	100.0 %
LSIL/HPV+	90	Positive	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positive	100.0 %	94.4 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tab. 7. Præcisionsundersøgelse inden for laboratorie – lot til lot-præcision

Puljekategori	Antal evalueringer	Tilstand for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne		
			Lot 1	Lot 2	Lot 3
T24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	92.2 %	93.3 %	96.7 %
NILM/HPV+	90	Positive	46.7 %	70.0 %	66.7 %
ASC-US/HPV+	90	Positive	90.0 %	96.7 %	93.3 %
LSIL/HPV+	90	Positive	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positive	100.0 %	100.0 %	96.7 %

Læserpræcision

Evaluering af læserpræcisionen blev foretaget af tre læserteams, der hver især bestod af en cytotechnolog og en patolog, som evaluerede alle farvede objektglas i præcisionsundersøgelserne, herunder 2 ens fra 12 cervikale cytologipuljer (3 HSIL/HPV+,

1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- LBC-puljer og 3 negative puljer med T24-cellelinjer), 3 CINtec PLUS Cytology Kit-lots i løbet af 5 ikke-sammenhængende dage. Procentdelen af resultater, der var de samme som hos størstedelen af patologerne, blev beregnet ud fra de samlede resultater for læserteamene og er sammenfattet i Tab. 8.

Tab. 8. Præcisionsundersøgelse inden for laboratorie – læserpræcision

Puljekategori	Antal evalueringer	Tilstand for CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne		
			Læserteam 1	Læserteam 2	Læserteam 3
T-24-cellelinje	270	Negativ	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	270	Negativ	95.6 %	91.1 %	95.6 %
NILM/HPV+	90	Positive	70.0 %	63.3 %	50.0 %
ASC-US/HPV+	90	Positive	100.0 %	90.0 %	90.0 %
LSIL/HPV+	90	Positive	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	270	Positive	98.9 %	98.9 %	98.9 %

Reproducerbarhed

Undersøgelser af reproducerbarhed for CINtec PLUS Cytology Kit blev udført for at påvise:

- Reproducerbarhed mellem lots for CINtec PLUS Cytology Kit (Tab. 9)
- Reproducerbarhed inden for samme kørsel (Tab. 10) og mellem kørsler (Tab. 11) på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumenterne
- Reproducerbarhed inden for samme platform på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumenterne (Tab. 12)
- Reproducerbarhed mellem platforme på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumenterne (0)

Tab. 9. Reproducerbarhed mellem lots for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Samlet procentvis overensstemmelse
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tab. 10. Reproducerbarhed inden for samme kørsel på CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Samlet procentvis overensstemmelse		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tab. 11. Reproducerbarhed mellem kørsler på CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Samlet procentvis overensstemmelse		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Tab. 12. Reproducerbarhed inden for samme platform på CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Samlet procentvis overensstemmelse		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tab. 13. Reproducerbarhed mellem platforme for CINtec PLUS Cytology Kit.

Prøvetype	Samlet procentvis overensstemmelse
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Disse undersøgelser blev udført på både cervikale ThinPrep- og SurePath-prøver. Alle undersøgelser opfyldte deres godkendelseskriterier.

Overensstemmelsesundersøgelser

Funktionen af CINtec PLUS Cytology Kit til brug på BenchMark GX-, XT- og ULTRA-instrumenter blev evalueret ved en sammenligning med CINtec PLUS Kit (prædikatenhed, Roche mtm laboratories AG, Mannheim), som tidligere har påvist høj sensitivitet og specificitet for tilstedeværelsen af præ-cancerøs og cancerøs sygdom i cervikale cytologiprøver med hensyn til tilstedeværelsen af individuelle cervikale epitelceller, der viser et positivt dobbeltfarvningsresultat for p16^{INK4a} og Ki-67.^{7-15,18,20,23,25-28}

Der er udført overensstemmelsesundersøgelser ved brug af patientprøver fra populationen for tilsigtet anvendelse med Pap-cytologiresultatet NILM (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy), ASC-US, LSIL og HSIL for hver af de individuelle cervikale cytologipræparatmetoder: objektglas af typen ThinPrep og BD SurePath samt objektglas med konventionelle udstrygninger. Hvad LBC-præparater angår, blev der klargjort to objektglas fra hver patientprøve. Til konventionelle udstrygninger blev der klargjort to objektglas fra samme patient ved samme besøg, hvorefter prøvematerialet blev delt mellem to objektglas (>delt prøve-teknikken<). Et objektglas blev testet med CINtec PLUS Cytology Kit på et BenchMark IHC/ISH-instrument, og et andet blev farvet med prædikatenheden.

Læsealgoritmen til LBC-præparater:

Hvert objektglas blev læst af to kvalificerede læsere. Hvis de var enige om resultatet, blev det anset for slutresultatet for det pågældende objektglas. Hvis de var uenige om resultatet, blev objektglasset vurderet af tre læsere som et panel for en enstemmig vurdering, og resultatet heraf blev slutresultatet for det pågældende objektglas. Hvis begge læsere scorede objektglasset negativt, blev objektglasset vurderet af en tredje læser for at bekræfte scoringen. Hvis den tredje læser bekræftede negativresultatet, blev slutresultatet for det objektglas negativt. Hvis den tredje læser scorede objektglasset positivt, gik det videre til et panel med henblik på enstemmig vurdering, hvilket blev slutresultatet for det objektglas.

Læsealgoritme til objektglas med konventionelle udstrygninger:

Hvert objektglas blev læst af to kvalificerede læsere. Hvis begge læsere scorede et objektglas positivt, blev slutresultatet for det objektglas positivt. Hvis læserne var uenige om resultatet, blev objektglasset vurderet af tre læsere som et panel for en enstemmig vurdering, og resultatet heraf blev slutresultatet for det pågældende objektglas. Hvis begge læsere scorede objektglasset negativt, blev objektglasset vurderet af en tredje læser for at bekræfte scoringen. Hvis den tredje læser bekræftede negativresultatet, blev slutresultatet for det objektglas negativt. Hvis den tredje læser scorede objektglasset positivt, gik det videre til et panel med henblik på enstemmig vurdering, hvilket blev slutresultatet for det objektglas.

Overensstemmelsen mellem testresultater rapporteres som positiv procentoverensstemmelse (PPA) og negativ procentoverensstemmelse (NPA) $\pm$ 95 %-konfidensintervallet (CI) mellem CINtec PLUS Cytology Kit, der er beregnet til brug på et BenchMark IHC/ISH-instrument, og prædikatenheden.

Tab. 14. Overensstemmelse mellem testresultater mellem CINtec PLUS Cytology Kit og prædikatenheden på ThinPrep-præparater til cervikal cytologi.

		Prædikatenhed	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
I alt		157	172
PPA (n/N) (95 %-CI) = $140/157 \times 100\% = 89.2\%$ (83.3–93.1 %)			
NPA (n/N) (95 %-CI) = $147/172 \times 100\% = 85.5\%$ (79.4–90.0 %)			

Tab. 15. Overensstemmelse mellem testresultater mellem CINtec PLUS Cytology Kit og prædikatenheden på SurePath-præparater til cervikal cytologi.

		Prædikatenhed	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
I alt		65	111
PPA (n/N) (95 %-CI) = $56/65 \times 100\% = 86.2\%$ (75.7–92.5 %)			
NPA (n/N) (95 %-CI) = $108/111 \times 100\% = 97.3\%$ (92.4–99.1 %)			

Tab. 16. Overensstemmelse mellem testresultater mellem CINtec PLUS Cytology Kit og prædikatenheden på objektglas med præparater med konventionelle udstrygninger til cervikal cytologi.

		Prædikatenhed	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
I alt		118	89
PPA (n/N) (95 %-CI) = $98/118 \times 100\% = 83.1\%$ (75.3–88.8 %)			
NPA (n/N) (95 %-CI) = $72/89 \times 100\% = 80.9\%$ (71.5–87.7 %)			

Undersøgelse med Roche Cell Collection Medium

Præstationen af Roche Cell Collection Medium sammenlignet med PreservCyt-opløsning blev vurderet ved at farve 616 par af cervikale præparater (tilfælde) ved hjælp af CINtec PLUS Cytology Kit. For hvert tilfælde blev der klargjort ét objektglas fra de respektive PC- eller RCCM-hætteglas. Alle objektglas blev læst af et team bestående af en cytotechnolog og en patolog, der ikke kendte til objektglassenes oplysninger. Sammenligningen af testresultater for CINtec PLUS Cytology Kit mellem medier (PC vs. RCCM) er sammenfattet i Tab. 17. Positivitetsfrekvensen blev beregnet ved at dividere antallet af positive tilfælde med det samlede antal egnede tilfælde for hvert medie. Resultaterne viser en forskel på 2.4 % (1.5, 6.3) mellem de to positivitetsfrekvenser.

Tab. 17. Overensstemmelse mellem CINtec PLUS Cytology Kit-positivitetssrater for Roche Cell Collection Medium (RCCM) og PreservCyt (PC).

CINtec PLUS Cytology Kit-resultat for RCCM	CINtec PLUS Cytology Kit-resultat for PC		
	Positive	Negativ	I alt
Positive	170	48	218
Negativ	37	204	241
I alt	207	252	459
RCCM positivitetssgrad, n/N (%):	218/459 (47.5 %)		
PC positivitetssgrad, n/N (%):	207/459 (45.1 %)		
Forskel i positivitetssfrekvenser, n/N (%):	11/459 (2.4 %; 95 % CI: -1.5, 6.3)		

CINtec PLUS Cytology Kit-resultaterne for celletilstrækkelighed ved sammenligning af PreservCyt og Roche Cell Collection Medium er sammenfattet i Tab. 18. Celletilstrækkelighedsfrekvenser blev beregnet ved at dividere antallet af tilfælde med celletilstrækkelighed med det samlede antal tilfælde for hvert medie. Resultaterne viser en forskel på 3.2 % (-0.0, 6.6) mellem de to celletilstrækkelighedsfrekvenser.

Tab. 18. Sammenligning af CINtec PLUS Cytology Kit-resultater for celletilstrækkelighed for Roche Cell Collection Medium (RCCM) og PreservCyt (PC).

CINtec PLUS Cytology Kit-resultater for celletilstrækkelighed for RCCM	CINtec PLUS Cytology Kit-resultater for celletilstrækkelighed for PC		
	Ja	Nej	I alt
Ja	468	63	531
Nej	43	42	85
I alt	511	105	616
RCCM tilstrækkelighedsgrad, n/N (%):	531/616 (86.2 %)		
PC tilstrækkelighedsgrad, n/N (%):	511/616 (83.0 %)		
Forskel i tilstrækkelighedsfrekvenser, n/N (%):	20/616 (3.2 %; 95 %-CI: -0.0, 6.6)		

Undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier på BenchMark ULTRA PLUS-farvningsplatform

Der blev udført en reproducerbarhedsundersøgelse for at evaluere CINtec PLUS Cytology-testen på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet mht. dobbelt immunocytochemisk påvisning af p16^{INK4a} og Ki-67 i cytologipræparater. Undersøgelsen omfattede 2 forskellige kulturer af T24-celler og 10 patientafledte præparatpuljer (2 HSIL/HPV+, 2 LSIL/HPV+, 2 ASC-US/HPV+, 2 NILM/HPV+ og 2 NILM/HPV- LBC puljer). T24-cellekulturerne blev fremstillet ud fra en enkelt arbejdscellebank. Hvert af de 3 forsøgscentre blev forsynet med alikvoter af hver præparatpulje, T24-cellekultur og en kontrolpulje, der indeholdt tilstrækkeligt volumen til at muliggøre de planlagte test på hvert center. På hver af de fem farvningsdage fremstillede forsøgscenterne et testobjektglas fra hver af de alikvoter, som RTD havde leveret, ved hjælp af en ThinPrep 2000- eller ThinPrep 5000-objektglasbehandler. Efter fremstilling af objektglas farvede hvert center et sæt med 13 objektglas på et BenchMark ULTRA PLUS-instrument. De 5 farvningsdage var ikke-fortløbende og strakte sig over mindst 20 dage. På hvert center vurderede to læserhold, hver bestående af en cytotechnolog og en patolog, uafhængigt de objektglas, der var farvet på deres center, for tilstedeværelse eller fravær af dobbelfarvning og tildelte objektglasset et CINtec PLUS Cytology-testresultat som positivt, negativt eller utilfredsstillende. Læserteamene blev blindet for enhver forudgående bestemmelse af HPV-status, Pap-cytologistatus, CINtec PLUS Cytology-testresultater eller anden klinisk information.

Data blev direkte indtastet i en klinisk database og analyseret for at bestemme reproducerbarheden af analysen på tværs af flere steder, dage og læserteams.

Acceptabilitetsrater for baggrund og cellularitet for alle tilfælde var 100 % for alle instrumenter. Resultaterne er sammenfattet i Tab. 19 og Tab. 20.

Tab. 19. Undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier af BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet – reproducerbarhed mellem laboratorier

Puljekategori	Antal evalueringer	Tilstand for CINtec PLUS Cytology-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne		
			Forsøgscenter A	Forsøgscenter B	Forsøgscenter C
T24-cellelinje	60	Negativ	95.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/HPV-	60	Negativ	100.0 %	95.0 %	100.0 %
NILM/HPV+	60	Positive	90.0 %	80.0 %	95.0 %
ASC-US/HPV+	60	Positive	100.0 %	95.0 %	100.0 %
LSIL/HPV+	60	Positive	100.0 %	95.0 %	100.0 %
HSIL/HPV+	60	Positive	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tab. 20. Undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier af BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet – samlet præcision

Puljekategori	Tilstand for CINtec PLUS Cytology-resultater (hos størstedelen af patologerne)	Procentdel af resultater, der er de samme som hos størstedelen af patologerne	n/N	95 %-konfidensintervaller
T24-cellelinje	Negativ	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Negativ	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Positive	88.3 %	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Positive	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Positive	98.3 %	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Positive	100.0 %	60/60	(94.0, 100.0)

Konkordans mellem BenchMark ULTRA PLUS- og BenchMark ULTRA-instrumenterne (ThinPrep Samples)

Tre laboratorier deltog i undersøgelsen af konkordans mellem BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet og BenchMark ULTRA-instrumentet. Til denne undersøgelse anvendtes 220 puljer fra afidentificerede ThinPrep LBC cervikale præparater, der var klargjort hos Roche Tissue Diagnostics (RTD), i følgende kategorier: 88 positive puljer, 22 puljer af positive grænsetilfælde, 22 puljer af negative mellemiggende tilfælde og 88 negative T24-cellekulturpuljer. Et sæt med 4 objektglas fra hver prøve blev klargjort hos RTD med en ThinPrep 2000- eller ThinPrep 5000-objektglasbehandler. Det første klargjorte objektglas fra hvert sæt blev farvet på et BenchMark ULTRA-instrument hos RTD. Et af de tre resterende objektglas blev leveret til hvert forsøgscenter til farvning med CINtec PLUS Cytology-test på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet. Det BenchMark ULTRA-objektglas, der blev farvet hos RTD, blev evalueret for tilstedeværelse eller fravær af dobbelfarvning og tildelt resultat af som positivt, negativt eller utilfredsstillende af et RTD-læserteam, bestående af en cytotechnolog og en patolog, for at etablere en referencescore. På hvert center evaluerede et undersøgelseslæserteam uafhængigt de objektglas, der var farvet på BenchMark ULTRA-instrumentet, for at nå frem til et CINtec PLUS Cytology-testresultat. De objektglas, der var farvet på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet på hvert forsøgscenter, blev evalueret af centerets læserteam for at nå frem til CINtec PLUS Cytology-testresultat. Derfor evaluerede hvert centers læserteam ét BenchMark ULTRA- og ét BenchMark ULTRA PLUS-farvet objektglas for hvert præparat. Læsningerne af de på BenchMark ULTRA og BenchMark ULTRA PLUS farvede objektglas var adskilt af en to ugers udvaskningsperiode. Alle læserteams blev blindet for enhver forudgående

bestemmelse af HPV-status, Pap-cytologistatus, CINtec PLUS Cytology-testresultater eller anden klinisk information.

Ydeevneoverensstemmelsen for CINtec PLUS Cytology-analysen blev anset som acceptabel på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet, hvis PPA- NPA-raternes nederste bundne af et tosidet 95-% konfidensinterval var mindst 85 %. Acceptabilitetsraten for baggrund og cellularitet af testobjektglas farvet med CINtec PLUS Cytology på et BenchMark ULTRA PLUS-instrument var påkrævet at være acceptabel på $\geq 90\%$ af alle testobjektglas, for at undersøgelsen kunne bestå. Acceptabilitetsraterne for baggrund og cellularitet på alle testobjektglas var henholdsvis 99.7 % og 99.4 %. Tab. 21 nedenfor sammenfattes overensstemmelsesraten for CINtec PLUS Cytology-status mellem BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumenterne.

Tab. 21. Undersøgelse af konkordans mellem BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet – poollet overensstemmelse i CINtec PLUS Cytology-status mellem platforme (ThinPrep)

CINtec PLUS Cytology-status						
BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA			Overensstemmelse		
	Positive	Negativ	I alt	Pro cent	% (n/N)	95 % CI
Positive	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)
Negativ	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
I alt	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Bemærk: De poolede overensstemmelsesrater samler alle præparater og læserteams for ULTRA PLUS.

Bemærk: PPA = positiv procentoverensstemmelse, NPA = negativ procentoverensstemmelse, OPA = samlet procentvis overensstemmelse.

Undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier på BenchMark ULTRA PLUS-farvningsplatform

Der blev udført en undersøgelse af reproducerbarhed mellem laboratorier for at evaluere reproducerbarhed indenfor samme kørsel, dag til dag præcision og mellemprecision mellem instrumenter af CINtec PLUS Cytology-testen i SurePath-præparater. Undersøgelsen omfattede 2 forskellige kulturer af T24-celler og 9 patientafledte SurePath-præparatpools (3 CINtec-positive/HPV+, 3 grænsetilfælde og 3 CINtec-negative/HPV-). Testobjektglassene blev klargjort på BD Totalys-objektglasforberedelsesinstrumentet på hver af de fem farvningsdage, som var ikke-fortløbende og strakte sig over mindst 20 dage. Der blev anvendt BenchMark ULTRA PLUS for at evaluere reproducerbarhed mellem instrumenter. Testobjektglassene blev evalueret af et læserteam bestående af en cytotechnolog og en patolog, der havde modtaget oplæring i at evaluere CINtec PLUS Cytology. Testobjektglaskonkordans blev bestemt ved at sammenligne CINtec PLUS Cytology-status for testobjektglassene med modalstatus på puljeniveau (PLM, Pool-Level Mode), der er defineret som det hyppigste statusresultat blandt alle evalueringer af en pulje, der samler data fra alle instrumenter, alle dage og alle replikater for den pågældende pulje. Acceptabilitetsraterne for baggrund og cellularitet for alle testobjektglas var henholdsvis 99.4 % og 99.7 %. Resultaterne er sammenfattet i Tab. 22, Tab. 23, Tab. 24 og Tab. 25 nedenfor.

Tab. 22. Undersøgelse af præcision inden for samme laboratorie – Samlet præcision af sandt positive og sandt negative SurePath-prøver

Modalstatus på poolniveau			Overensstemmelse			
CINtec PLUS-status	Positive	Negativ	I alt	Måling	% (n/N)	95 % CI
Positive	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)

Modalstatus på poolniveau			Overensstemmelse			
CINtec PLUS-status	Positive	Negativ	I alt	Måling	% (n/N)	95 % CI
Negativ	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
I alt	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

Tab. 23. Undersøgelse af præcision inden for samme laboratorie – Dag til dag præcision

Dag	Samme resultat med PLM, n (%)	Andet resultat end PLM, n (%)	Total, n (%)
Dag 1	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 2	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
Dag 3	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 4	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dag 5	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Tab. 24. Undersøgelse af præcision inden for samme laboratorie – Reproducerbarhed indenfor samme kørsel

Replikat	Samme resultat med PLM, n (%)	Andet resultat end PLM, n (%)	Total, n (%)
Replikat 1	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
Replikat 2	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

Tab. 25. Undersøgelse af præcision inden for samme laboratorie – Mellemprecision mellem instrumenter

Instrument	Samme resultat med PLM, n (%)	Andet resultat end PLM, n (%)	Total, n (%)
Instrument 1	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrument 2	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Instrument 3	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Konkordans mellem BenchMark ULTRA PLUS- og BenchMark ULTRA-farvningsplatforme (SurePath-prøver)

Der blev udført en intern konkordansundersøgelse for at verificere ækvivalent farvningsydelse af CINtec PLUS Cytology-kittet mellem BenchMark ULTRA- og ULTRA PLUS-farvningsplatformene på SurePath-prøver. Undersøgelsen omfattede 88 sandt positive, 26 muligvis positive, 26 negative mellemliggende tilfælde og 88 sandt negative T24-cellelinjekulturer. To testobjektglas fra hver prøve blev klargjort på BD Totalys-objektglasforberedelsesinstrumentet og blev derefter farvet med CINtec PLUS Cytology på enten BenchMark ULTRA eller BenchMark ULTRA PLUS. Testobjektglassene blev evalueret af et læserteam bestående af en cytotechnolog og en patolog, der havde modtaget oplæring i at evaluere CINtec PLUS Cytology. Ydeevneoverensstemmelsen for CINtec PLUS Cytology-analysen blev anset som acceptabel på BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet, hvis PPA- NPA-raternes nederste bundne af et tosidet 95 % konfidensinterval var mindst 85 %. Acceptabilitetsraten for baggrund og cellularitet af testobjektglas farvet med CINtec PLUS Cytology på et BenchMark ULTRA PLUS-instrument var påkrævet at være acceptabel på $\geq 90\%$ af alle testobjektglas, for at undersøgelsen kunne bestå. Acceptabilitetsraterne for baggrund og cellularitet for alle testobjektglas var henholdsvis 99.6 % og 99.1 %. Resultaterne er sammenfattet i Tab. 26 nedenfor.

Tab. 26. Undersøgelse af konkordans mellem BenchMark ULTRA- og BenchMark ULTRA PLUS-instrumentet (SurePath)

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

KLINISK PRÆSTATION

Et prospektivt forsøg med flere forsøgscentre (IMPACT, IMproved Primary screening And Colposcopy Triage) blev designet for at evaluere den kliniske præstation for CINtec PLUS Cytology Kit på instrumentet BenchMark ULTRA ved brug af klinisk indsamlede cervikale prøver indsamlet i PreservCyt®-opløsning med henblik på identifikation af en høj grad af cervikal sygdom. Undersøgelsen var designet med henblik på evaluering af præstationen for CINtec PLUS Cytology Kit som en reflekstest blandt kvinder på ≥ 25 år, som havde vist sig at være HPV-positive ved cobas® 4800 HPV Test eller cobas® 6800/8800 HPV Test. Data fra denne undersøgelse understøtter brug af CINtec PLUS Cytology Kit som hjælp til identifikation af kvinder med cervikale intraepitelliale læsioner af høj grad blandt patienter med et positivt HR-HPV-testresultat.

Præstationskarakteristika for CINtec PLUS Cytology Kit versus Pap-cytologi for kvinder i alderen 25–65 år med positive resultater fra cobas® 6800/8800 HPV Test eller cobas® 4800 HPV Test

Den komparative præstation for CINtec PLUS Cytology Kit versus Pap-cytologi hos kvinder, der er testet positive ved cobas® 6800/8800 HPV Test og cobas® 4800 HPV Test, er vist i nedenstående tabeller for henholdsvis populationen 12 andre HR HPV+ (Tab. 27), HPV16+ (Tab. 28) og HPV18+ (Tab. 29). For alle tre genotypegrupper vedkommende blev der observeret en stigning i sensitivitet og et fald i specificitet med hensyn til detektion af en høj grad af cervikal sygdom for CINtec PLUS Cytology Kit vs. Pap-cytologi (Tab. 27, Tab. 28 og Tab. 29).

Blandt de kvinder, der var testet positive ved såvel cobas® 6800/8800 HPV Test som cobas® 4800 HPV Test, blev der observeret den største stigning i sensitivitet (forskelle = henholdsvis 23.1 % og 24.2 %) og det mindste fald i specificitet (forskelle = henholdsvis 7.9 % og 8.7 %) i forhold til Pap-cytologi i populationen 12 andre HR HPV+ (Tab. 27).

I alle tilfælde medførte brug af CINtec PLUS Cytology Kit en væsentlig reduktion af sygdomsrisikoen for negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater i forhold til NILM-Pap-cytologi. Blandt de kvinder, der var testet positive ved cobas® 6800/8800 HPV Test, var 1-NPV henholdsvis 3.7 %, 6.1 % og 1.2 % lavere for $\geq$ CIN2 og 0.9 %, 3.3 % og 0.3 % lavere for $\geq$ CIN3 i populationerne 12 andre HR HPV+, HPV16+ og HPV18+. Blandt de kvinder, der var testet positive ved cobas® 4800 HPV Test, var 1-NPV henholdsvis 3.4 %, 9.1 % og 3.3 % lavere for $\geq$ CIN2 og 0.8 %, 5.1 % og 0.5 % lavere for $\geq$ CIN3 i populationerne 12 andre HR HPV+, HPV16+ og HPV18+.

Tab. 27. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit versus Pap-cytologi i populationen 12 andre HR HPV+, kvinder i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	11.2 (306/2722)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	10.7 (312/2906)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	3.2 (94/2906)		
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.			

Tab. 28. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit versus Pap-cytologi i populationen HPV16+, kvinder i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	23.8 (190/800)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	31.6 (188/594)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	19.7 (117/594)		
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.			

Tab. 29. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit versus Pap-cytologi i populationen HPV18+, kvinder i alderen 25–65 år.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	10.2 (37/364)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	14.3 (32/223)		
Præstations-Måling	CPR-diagnose af ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Pap-cytologi	Forskel
Sensitivitet (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	6.7 (15/223)		
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.			

Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.

Præstationskarakteristika i populationen bestående af kvinder i alderen 30–65 år med positive resultater fra cobas® 6800/8800 HPV Test eller cobas® 4800 HPV Test og med NILM-Pap-cytologiresultater

Præstationen af CINtec PLUS Cytology Kit med hensyn til detektion af ≥ CIN2 og ≥ CIN3 i populationen 12 andre HR HPV+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, fremgår af Tab. 30.

Med cobas® 6800/8800 system og populationen 12 andre HR HPV+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet for detektion af ≥ CIN2 henholdsvis 66.7 % og 69.7 % (henholdsvis 62.5 % og 67.8 % for ≥ CIN3). PPV'erne i denne gruppe var 13.0 % for ≥ CIN2 og 2.6 % for ≥ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 3.1 % for ≥ CIN2 og 0.8 % for ≥ CIN3.

Med cobas® 4800 system og populationen 12 andre HR HPV+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet for detektion af ≥ CIN2 henholdsvis 64.9 % og 71.0 % (henholdsvis 66.7 % og 69.4 % for ≥ CIN3). PPV'erne i denne gruppe var 12.0 % for ≥ CIN2 og 2.5 % for ≥ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 2.9 % for ≥ CIN2 og 0.6 % for ≥ CIN3.

Tab. 30. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit i populationen 12 andre HR HPV+, kvinder i alderen 30–65 år, med NILM-cytologi.

Præstationsmåling	cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+/NILM	
	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3
Sensitivitet (%)	66.7 (50/75) (55.4, 76.3)	62.5 (10/16) (38.6, 81.5)	64.9 (48/74) (53.5, 74.8)	66.7 (10/15) (41.7, 84.8)

Præstationsmåling	cobas® 6800/8800 system, 12 andre HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 andre HR HPV+/NILM	
	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	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)
Positivitetsfrekvens (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; PLR = positivt sandsynlighedsforhold; NLR = negativt sandsynlighedsforhold; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.				

Præstationen af CINtec PLUS Cytology Kit med hensyn til detektion af $\geq$ CIN2 og $\geq$ CIN3 i populationen HPV16+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, fremgår af Tab. 31.

Med cobas® 6800/8800 system og populationen HPV16+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet henholdsvis 76.3 % og 72.5 % for $\geq$ CIN2 og henholdsvis 75.0 % og 70.5 % for $\geq$ CIN3. PPV'erne i denne gruppe var 23.8 % for $\geq$ CIN2 og 14.8 % for $\geq$ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 3.5 % for $\geq$ CIN2 og 2.4 % for $\geq$ CIN3.

Med cobas® 4800 system og populationen HPV16+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet henholdsvis 80.6 % og 61.7 % for $\geq$ CIN2 og henholdsvis 81.8 % og 59.0 % for $\geq$ CIN3. PPV'erne i denne gruppe var 27.9 % for $\geq$ CIN2 og 17.3 % for $\geq$ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 5.5 % for $\geq$ CIN2 og 3.1 % for $\geq$ CIN3.

Tab. 31. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit i populationen HPV16+, kvinder i alderen 30–65 år, med NILM-cytologi.

Præstationsmåling	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3
Sensitivitet (%)	76.3 (29/38) (60.8, 87.0)	75.0 (18/24) (55.1, 88.0)	80.6 (29/36) (65.0, 90.2)	81.8 (18/22) (61.5, 92.7)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	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)
Positivitetsfrekvens (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; PLR = positivt sandsynlighedsforhold; NLR = negativt sandsynlighedsforhold; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.				

Præstationen af CINtec PLUS Cytology Kit med hensyn til detektion af $\geq$ CIN2 og $\geq$ CIN3 i populationen HPV18+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, fremgår af Tab. 32.

Med cobas® 6800/8800 system og populationen HPV18+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet henholdsvis 75.0 % og 73.3 % for $\geq$ CIN2 og henholdsvis 66.7 % og 72.1 % for $\geq$ CIN3. PPV'erne var henholdsvis 9.7 % og 3.2 % for $\geq$ CIN2 og $\geq$ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var henholdsvis 1.3 % og 0.6 % for $\geq$ CIN2 og $\geq$ CIN3.

Med cobas® 4800 system og populationen HPV18+, kvinder med NILM-Pap-cytologi, var sensitivitet og specificitet henholdsvis 85.7 % og 68.3 % for $\geq$ CIN2 og henholdsvis 66.7 % og 65.7 % for $\geq$ CIN3. PPV'erne var henholdsvis 15.8 % og 5.3 % for $\geq$ CIN2 og $\geq$ CIN3, mens sygdomsrisikoen hos kvinder med negative CINtec PLUS Cytology Kit-resultater (1-NPV) var 1.4 % for begge sygdoms-cutoffs.

Tab. 32. Præstation for CINtec PLUS Cytology Kit i populationen HPV18+, kvinder i alderen 30–65 år, med NILM-cytologi.

Præstationsmåling	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3	CPR-diagnose af ≥ CIN2	CPR-diagnose af ≥ CIN3
Sensitivitet (%)	75.0 (6/8) (40.9, 92.9)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)	85.7 (6/7) (48.7, 97.4)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)
Specificitet (%)	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)
Prævalens (%)	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)
Positivitetsfrekvens (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	
Bemærk: CPR = central patologigennemgang; PPV = positiv prædiktiv værdi; NPV = negativ prædiktiv værdi; PLR = positivt sandsynlighedsforhold; NLR = negativt sandsynlighedsforhold; tallene i parentes er (n/N) og 2-sidede 95 %-konfidensintervaller.				

FEJLFINDING

- Hvis en reagensdispenser ikke dispenser væske, skal du kontrollere spædningskammeret eller menisken for fremmedlegemer eller partikler som fibre eller udfældning. Hvis dispenseren er blokeret, må du ikke anvende dispenseren, og du skal kontakte den lokale supportrepræsentant. Ellers skal du prime dispenseren igen ved at rette dispenseren hen over en affaldsbeholder, fjerne dysenhæften og trykke ned på toppen af dispenseren.
- Der kan forekomme periodisk krystallisering fra CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate-dispenseren. Ingen undersøgelser tyder på, at krystallerne forstyrrer fortolkningen af resultater. Hvis der observeres krystaller på objektglassene, rengøres dysespidsen, og dispenseren primes for at sikre, at eventuelle krystalrester fjernes. Hvis der stadig er krystaller, kasseres dispenseren, og din lokale supportrepræsentant kontaktes med henblik på udskiftning af dispenseren.
- Hvis den positive kontrol udviser svagere farvning end ventet, kontrolleres den valgte protokols overensstemmelse med den aktuelle præparattype. Eksempelvis kræver SurePath-cytologiklargøringer længere celleforbehandling end ThinPrep-objektglas eller objektglas med konventionelle udstrygninger. Det skal også kontrolleres, at alle dispenserbeholdere er ordentligt rengjort.
- Hvis den positive kontrol er negativ, skal det kontrolleres, om objektglasset har den rigtige strekkodeetiket. Hvis objektglasset er korrekt forsynet med en etiket, skal det kontrolleres, at alle dispenserbeholdere er ordentligt rengjort.
- Hvis der observeres høj baggrund, reduceres inkubationstiden i farvningsprotokollerne. Derudover skal du kontrollere, at Reaction Buffer-bulkopløsningen er formuleret korrekt.
- Hvis der observeres svag farvning, øges inkubationstiden i farvningsprotokollerne. Inkubationstiden for celleforbehandling kan også justeres på et objektglas med konventionelle udstrygninger.
- Den røde udfældning, der bruges til at indikere Ki-67-proteinekspression, kan opløses i alkohol. Hvis Ki-67-farvning er svag eller ikke til stede, skal det sikres, at der ikke blev brugt alkoholholdigt hæmatoxylin, og at den anbefalede efterbehandlingsprocedure blev fulgt i henhold til instruktionerne for efterbehandlingsprocedure – montering og dækglass.
- Hvis prøven skylles af objektglasset, skal objektglassene kontrolleres for at sikre, at prøven er klargjort korrekt i henhold til anvisningerne i afsnittet Klargøring af præparat, og at den anbefalede mikroskopobjektglastype er brugt.

- Se afsnittet Farvningsprocedure i instrumentets brugervejledning for at få flere oplysninger om afhjælpning, eller kontakt din lokale supportrepræsentant.
- Hvis en RCCM-prøvehætte er forlagt, eller hvis prøvehætteglasset er utæt, kan der bestilles erstatningshætter (løse, 250/pose, REF 08037230190 eller 8 bakker á 48/kasse, REF 06913512001).

REFERENCER

- Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. Cell. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17(10):2536-2545.
- Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16^{INK4a} immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. Cancer Cytopathol. 2012;120(5):294–307.
- Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4a results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
- Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66.
- Petry KU, Schmidt D, Scherbringer S, et al. Triage of Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-9.
- Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-6.

10. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2012;120(1):26-34.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(20):1550-7.
12. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Sep 15;107(12):djv257.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triaging HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. *Int J Cancer.* 2015;136(10):2361-68.
14. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res.* 2012;18(15):4154-62.
15. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol.* 2015. 123(6):373-81.
16. Dona MG, Vocaturo A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. *Gynecol Oncol.* 2012;126(2):198-202.
17. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(4):212-218.
18. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16^{INK4a}-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. *Am J Clin Pathol.* 2016; 145(1):35-45.
19. Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16(INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. *Pathologica.* 2015;107(3-4):185-191.
20. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triaging HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecol Oncol.* 2017;144:51-56.
21. Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. *JAMA Oncol.* 2019;5(2):181-186.
22. Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. *JAMA Intern Med.* 2019;179(7):881-888.
23. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. *Cancer Cytopathol.* 2014;122(12):914-20.
24. Arian-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. *Virchows Arch.* 2018;473(5):599-606.
25. Ebisch RMF, van der Horst J, Hermesen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. *Mod Pathol.* 2017;30(7): 1021-1031.
26. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
27. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
28. Nayar R and Wilbur DC, eds. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 3rd ed. 2015, Springer International Publishing: Switzerland.

BEMÆRK: Der anvendes altid et punktum i dette dokument som decimaltegn til markering af grænsen mellem det hele tal og de efterfølgende decimaler. Der anvendes ikke tusindtalsseparatorer.

Sammenfatningen af sikkerhed og ydeevne kan findes her:

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

Symboler

Ventana bruger følgende symboler og tegn ud over dem, der er anført i ISO 15223-1-standard (for USA: Se elabdoc.roche.com/symbols for yderligere oplysninger).



Globalt vareidentifikationsnummer

Rx only

For USA: Forsigtig: Ifølge amerikansk føderal lovgivning må dette udstyr kun sælges af eller efter ordination fra en læge.

REVISIONSHISTORIK

Rev	Opdateringer
J	Opdatering af skabelon og mærkning. Tilføjelse af BenchMark ULTRA PLUS.

OPHAVSRET

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC og COBAS er varemærker tilhørende Roche. Alle andre produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTOPPLYSNINGER



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

www.roche.com



0123