

CINtec® p16 Histology

REF	805-4713	Σ	50
	06695248001		
REF	825-4713	Σ	250
	06695256001		
IVD			

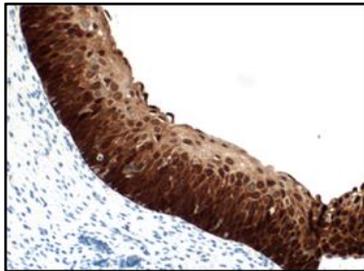


Figure 1. Coloration de cellules épithéliales malpighiennes cervicales à l'aide du CINtec p16 Histology.

UTILISATION PREVUE

Le CINtec p16 Histology est un test d'immunohistochimie à utiliser pour la détection qualitative de la protéine p16^{INK4a} dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine préparées à partir de biopsies cervicales. Il est indiqué en association avec les lames colorées H&E préparées à partir du même échantillon de tissu cervical, afin de renforcer la précision du diagnostic et la concordance entre les observateurs dans le diagnostic des néoplasies intra-

épithéliales cervicales de haut grade.

Ce produit doit être interprété par un anatomopathologiste qualifié, en complément d'examen histologiques, d'informations cliniques pertinentes et de contrôles adaptés.

Cet anticorps est conçu pour une utilisation en diagnostic in vitro (IVD).

RESUME ET EXPLICATION

Le test CINtec p16 Histology est constitué d'un composant unique : l'anti-p16^{INK4a} (E6H4), un anticorps primaire monoclonal de souris.

p16^{INK4a} (p16) joue un rôle clé dans la progression du cycle cellulaire et la différenciation cellulaire en tant qu'inhibiteur de la kinase cycline-dépendante.¹⁻⁴ La protéine p16^{INK4a} contrôle la transition G1-S-phase médiée par la protéine du rétinoblastome (pRB) et déclenche l'arrêt du cycle cellulaire au cours du processus de différenciation cellulaire.^{1,5} Dans les cellules normales, en phase terminale de différenciation, p16^{INK4a} est exprimée à de faibles niveaux, généralement non détectables par immunohistochimie.^{1,5} Des études ont identifié une forte surexpression de p16^{INK4a} dans les tissus précancéreux et cancéreux, étroitement liée à l'expression de l'oncoprotéine E7 du papillomavirus humain (HPV).^{1,3,6,7,8}

La détection par IHC de la surexpression de p16 peut faciliter l'interprétation des échantillons histologiques du col de l'utérus. Il a été décrit que la protéine p16 est surexprimée dans les cellules épithéliales malpighiennes néoplasiques du col de l'utérus, tandis qu'elle est pratiquement absente dans l'épithélium normal et dans les lésions non néoplasiques.^{1,2,5,6,7} De nombreuses études se sont penchées sur la corrélation entre la surexpression de p16 et la présence de néoplasies intraépithéliales cervicales (CIN).^{8,9} La surexpression de p16 a été observée dans quasiment toutes les lésions CIN3, la majorité des lésions CIN2 et d'une manière générale dans 40 à 60 % des lésions malpighiennes cervicales classées comme CIN1 dans les coupes de tissus colorées à l'H&E.⁸⁻¹³

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'interprétation diagnostique des échantillons de biopsie cervicale établit la base sur laquelle reposent les décisions de traiter les patientes. Une lésion CIN1 est la manifestation histologique d'une infection au PVH. En général, il est recommandé que les patientes ayant reçu un diagnostic de lésions CIN1 reviennent pour une évaluation de suivi un an plus tard.¹⁴ Pour les maladies du col de l'utérus, la lésion CIN2 est le seuil clinique le plus fréquemment utilisé pour le traitement.¹⁴ Un traitement par excision ou ablation est recommandé pour les patientes présentant des lésions CIN2 ou CIN3. Le risque lié au traitement d'excision pour la patiente en âge de procréer comprend des effets

indésirables sur les grossesses futures.^{15,16,17} Il est donc important de poser un diagnostic précis de CIN et en particulier de CIN2 et de CIN3 dans les décisions de prise en charge des patientes.¹⁸

L'interprétation morphologique des échantillons de biopsie cervicale par H&E uniquement est sujette à une variabilité interobservateur.¹⁸⁻²⁵ Plusieurs études ont évalué l'utilisation complémentaire de lames colorées p16 et l'effet sur la fiabilité interobservateur dans l'interprétation diagnostique des échantillons d'histologie cervicale par les anatomopathologistes. Dans toutes ces études, la concordance diagnostique entre les anatomopathologistes s'est améliorée de manière significative lorsque les lames colorées par p16 étaient interprétées en même temps que les lames colorées par H&E, par rapport à l'interprétation de la seule lame colorée par H&E.^{10,11,13,21,22,26,27,28}

En outre, plusieurs études ont évalué l'effet sur la précision diagnostique de l'interprétation de l'histologie cervicale lorsque des lames colorées par p16 étaient utilisées en même temps que des lames colorées par H&E. Dijkstra et al. (2010) ont montré une concordance quasi parfaite entre les diagnostics établis par un seul anatomopathologiste avec des lames colorées pour p16 complémentaires et les diagnostics posés par un panel d'experts en anatomopathologie uniquement à partir de lames colorées à l'HE.¹⁰ Bergeron et al. ont rapporté une augmentation significative de la justesse des diagnostics lorsque l'interprétation comprend à la fois des lames colorées pour p16 et des lames colorées à l'HE par rapport à l'interprétation ne portant que sur des lames colorées à l'HE (p = 0.0004), avec un accroissement de la sensibilité pour les lésions ≥ CIN2 de 77 à 87 %.¹¹ Dans une récente étude populationnelle prospective dans laquelle un centre clinique universitaire situé aux États-Unis a analysé plus 1450 cas de biopsies cervicales consécutives, il a été constaté que la coloration pour p16 « constitue un complément diagnostique utile et fiable pour faire la distinction entre les biopsies avec et sans CIN2+ ». ¹² L'interprétation complémentaire de lames colorées à l'HE comprenant des coupes de tissu cervical et de lames consécutives du même échantillon tissulaire immunocolorées pour p16 pourrait donc améliorer considérablement la concordance des diagnostics découlant de l'interprétation des biopsies cervicales.

PRINCIPE DE LA PROCEDURE

Le CINtec p16 Histology est un anticorps primaire monoclonal de souris dirigé contre la protéine p16^{INK4a}. Le CINtec p16 Histology se lie à la protéine p16^{INK4a} dans les coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) et produit un profil de coloration nucléaire et/ou cytoplasmique. Cet anticorps peut être visualisé à l'aide de l'OptiView DAB IHC Detection Kit (réf. 760-700 ; 06396500001) ou de l'ultraView Universal DAB Detection Kit (réf. 760-500 ; 05269806001). Consulter la fiche technique correspondante pour de plus amples informations.

MATERIEL FOURNI

Le CINtec p16 Histology (réf. 805-4713 / 06695248001) contient suffisamment de réactif pour 50 tests.

Un distributeur de 5 mL de CINtec p16 Histology contient environ 5.0 µg d'anticorps monoclonal de souris.

Le CINtec p16 Histology (réf. 825-4713 / 06695256001) contient suffisamment de réactif pour 250 tests.

Un distributeur de 25 mL de CINtec p16 Histology contient environ 25.0 µg d'anticorps monoclonal de souris.

Cet anticorps est dilué dans du Tris-HCl renfermant une protéine de transport et 0.10 % de ProClin 300, un conservateur.

La concentration d'anticorps spécifiques est d'environ 1.0 µg/mL. Ce produit ne présente aucune réactivité non spécifique connue de l'anticorps.

Le CINtec p16 Histology est un anticorps monoclonal de souris recombinant purifié à partir de surageant de culture cellulaire.

Se reporter à la fiche technique du kit de détection VENTANA approprié pour obtenir une description détaillée des éléments suivants : principe de la procédure, matériel et méthodes, prélèvement et préparation des échantillons pour l'analyse, procédures de contrôle qualité, résolution des problèmes, interprétation des résultats et limites.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Les réactifs de coloration tels que les kits de détection et les composants accessoires VENTANA, y compris les lames de tissu de contrôle négatif et positif, ne sont pas fournis.

Il est possible que certains produits indiqués dans la notice ne soient pas disponibles dans certains pays. Contacter un représentant du service client local.

Les réactifs et le matériel suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

1. Tissus de contrôle recommandés
2. Lames de microscope chargées positivement
3. Negative Control (Monoclonal) (réf. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (réf. 760-700 / 06396500001)
5. ultraView Universal DAB Detection Kit (réf. 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (réf. 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (réf. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (réf. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (réf. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (réf. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (réf. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (réf. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (réf. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (réf. 760-2037 / 05266769001)
15. Milieu de montage permanent
16. Lamelle de verre
17. Colleuse de lamelles automatisée
18. Matériel courant de laboratoire
19. Appareil BenchMark IHC/ISH

CONSERVATION ET STABILITE

Conserver le produit entre 2 et 8 °C dès réception et lorsqu'il n'est pas utilisé. Ne pas congeler.

Pour assurer une distribution correcte du réactif et la stabilité de l'anticorps, remettre le capuchon sur le distributeur après chaque utilisation et ranger immédiatement celui-ci en position verticale dans le réfrigérateur.

Chaque distributeur d'anticorps porte une date de péremption. Lorsqu'il est correctement conservé, le réactif reste stable jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser le réactif au-delà de la date d'expiration.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les tissus FFPE préparés en routine sont adaptés à la coloration à l'aide de cet anticorps primaire lorsque celui-ci est utilisé avec les kits de détection VENTANA et les appareils BenchMark IHC/ISH. Il est recommandé de fixer les tissus au formol neutre tamponné à 10 %.²⁹ Les coupes doivent avoir une épaisseur d'environ 4 µm et être montées sur des lames chargées positivement. Les lames doivent être colorées immédiatement, car l'antigénicité des coupes de tissu peut diminuer avec le temps. Contacter un représentant Roche pour obtenir un exemplaire du document « Recommended Slide Storage and Handling » pour de plus amples informations.

Il est recommandé de tester des contrôles positifs et négatifs en même temps que les échantillons inconnus.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour utilisation en diagnostic in vitro (DIV).
2. Pour utilisation professionnelle uniquement.
3. Ne pas utiliser au-delà du nombre de tests indiqué.
4. Une solution de ProClin 300 est utilisée comme conservateur dans ce réactif. Ce conservateur classé comme produit irritant peut provoquer une sensibilisation par contact avec la peau. Prendre toutes les précautions nécessaires pendant la manipulation. Éviter tout contact des yeux, de la peau et des membranes muqueuses avec les réactifs. Utiliser des gants et porter des vêtements de protection.
5. Les conditions ambiantes peuvent affecter les lames chargées positivement et conduire à une coloration inappropriée. Un représentant Roche pourra fournir plus d'informations sur l'utilisation de ces types de lames.
6. Les produits d'origine humaine ou animale doivent être manipulés comme du matériel présentant un risque biologique et éliminés en prenant les précautions appropriées. En cas d'exposition à un tel produit, il convient de respecter les directives des autorités de santé compétentes.^{30,31}
7. Éviter tout contact des yeux et des muqueuses avec les réactifs. Si des réactifs entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.

8. Éviter toute contamination microbienne des réactifs, car cela pourrait entraîner des résultats erronés.
9. Pour plus d'informations sur l'utilisation de ce produit se référer au guide d'utilisation de l'appareil BenchMark IHC/ISH et au mode d'emploi de tous les composants nécessaires à l'adresse navifyportal.roche.com.
10. Consulter les autorités locales et/ou nationales pour connaître la méthode d'élimination recommandée.
11. L'étiquetage de sécurité des produits suit principalement les directives SGH de l'UE. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande pour les utilisateurs professionnels.
12. Pour signaler toute suspicion d'événement grave lié à ce dispositif, contacter un représentant Roche local et l'autorité compétente de l'État membre ou du pays dans lequel le dispositif est utilisé.

Ce produit contient des composants classés comme suit conformément au Règlement (CE) N° 1272/2008 :

Tableau 1. Mentions de danger.

Danger	Code	Mention
	H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
	H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
	P261	Éviter de respirer les brouillards ou les vapeurs.
	P273	Éviter le rejet dans l'environnement.
	P280	Porter des gants de protection.
	P333 + P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.
	P362 + P364	Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
	P501	Éliminer le contenu/récipient dans une usine de traitement des déchets agréée.

Ce produit contient la masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1), numéro CAS 55965-84-9.

PROCEDURE DE COLORATION

Les anticorps primaires VENTANA ont été développés pour être utilisés sur les appareils BenchMark IHC/ISH en association avec les kits de détection et les accessoires VENTANA. Les protocoles de coloration recommandés se trouvent dans le Tableau 2 et le Tableau 3 ci-dessous.

Cet anticorps a été optimisé pour des temps d'incubation spécifiques, mais l'utilisateur doit valider les résultats obtenus avec ce réactif.

Les paramètres des procédures automatisées peuvent être affichés, imprimés et modifiés conformément à la procédure décrite dans le guide d'utilisation de l'appareil. Pour plus de détails sur les procédures de coloration par immunohistochimie, consulter la fiche technique du kit de détection VENTANA approprié.

Pour de plus amples informations sur l'utilisation appropriée de ce dispositif, consulter la fiche technique du distributeur de réactif associée à la référence 805-4713 ou 825-4713.

Tableau 2. Protocole de coloration recommandé pour le CInTec p16 Histology avec l'ultraView Universal DAB Detection Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

Type de procédure	Méthode		
	GX	XT	ULTRA ou ULTRA PLUS
Déparaffinage	Sélectionné	Sélectionné	Sélectionné
Cell Conditioning (démaquage de l'antigène)	CC1, Standard	CC1, Standard	ULTRA CC1, 64 minutes 95 °C
Anticorps (primaire)	24 minutes, 37 °C	16 minutes, 37 °C	20 minutes, 36 °C

Type de procédure	Méthode		
	GX	XT	ULTRA ou ULTRA PLUS
ultraBlock*	8 minutes	S.o.	S.o.
Contre-coloration	Hematoxylin II, 4 minutes		
Après contre-coloration	Bluing, 4 minutes		

*Utilisation de l'Antibody Diluent à l'étape ultraBlock.

Tableau 3. Protocole de coloration recommandé pour le CINtec p16 Histology avec l'OptiView DAB IHC Detection Kit sur les appareils BenchMark IHC/ISH.

Type de procédure	Méthode		
	GX	XT	ULTRA ou ULTRA PLUS
Déparaffinage	Sélectionné	Sélectionné	Sélectionné
Cell Conditioning (démasquage de l'antigène)	CC1, 32 minutes	CC1, 48 minutes	ULTRA CC1, 48 minutes 100 °C
Inhibiteur de peroxydase avant l'anticorps primaire	Sélectionné	Sélectionné	Sélectionné
Anticorps (primaire)	8 minutes, 37 °C	8 minutes, 37 °C	12 minutes, 36 °C
Fixation post-anticorps*	8 minutes	S.o.	S.o.
Contre-coloration	Hematoxylin II, 4 minutes		
Après contre-coloration	Bluing, 4 minutes		

*Utilisation de l'Antibody Diluent à l'étape Fixation post-anticorps.

En raison d'une certaine variabilité de la fixation et de la préparation des tissus ainsi que des conditions générales ambiantes du laboratoire et des appareils utilisés, il peut être nécessaire d'augmenter ou de diminuer la durée d'incubation de l'anticorps primaire, du démasquage cellulaire ou du prétraitement à la protéase en fonction des échantillons, de la méthode de détection utilisée et des préférences du lecteur des lames. Pour de plus amples informations sur les variables de fixation, consulter l'ouvrage « Immunohistochemistry Principles and Advances ».32

REACTIF DE CONTROLE NEGATIF

En plus de la coloration avec le CINtec p16 Histology, une seconde lame doit être colorée avec le réactif de contrôle négatif approprié.

TISSU DE CONTROLE POSITIF

Il est considéré comme bonne pratique de laboratoire d'inclure une coupe de contrôle positive sur la même lame que le tissu à tester. Cela permet d'identifier tout problème d'application des réactifs sur la lame. Un tissu qui présente une coloration positive faible est le mieux adapté pour le contrôle qualité. Le tissu de contrôle peut comprendre à la fois des éléments positifs et des éléments négatifs à la coloration et peut servir à la fois de tissu de contrôle positif et négatif. Le tissu de contrôle doit être un échantillon fraîchement prélevé lors d'une autopsie, d'une biopsie ou d'une intervention chirurgicale et préparé ou fixé dès que possible après le prélèvement et de manière identique aux coupes à tester.

Des tissus de contrôle positif connus doivent être utilisés uniquement pour vérifier les performances des réactifs et des appareils, et non comme une aide à la formulation d'un diagnostic spécifique sur les échantillons testés. Si les tissus de contrôle positif ne présentent pas de coloration positive, les résultats de l'échantillon testé doivent alors être considérés comme non valides.

Les exemples de tissus de contrôle positif pour cet anticorps incluent du tissu de pancréas ou d'amygdale normal et du tissu de carcinome du col de l'utérus.

Dans le tissu amygdalien normal, une coloration nucléaire et/ou cytoplasmique de cellules épithéliales pavimenteuses dispersées principalement dans l'épithélium cryptique et de cellules dendritiques folliculaires dispersées dans les centres germinatifs est observée.

Aucune coloration n'est présente dans la majorité des lymphocytes (de rares lymphocytes peuvent être colorés).

INTERPRETATION DE LA COLORATION / RESULTATS ATTENDUS

Le profil de coloration cellulaire obtenu à l'aide du CINtec p16 Histology est nucléaire et/ou cytoplasmique.

La surexpression du biomarqueur p16^{INK4a} dans les échantillons de biopsie cervicale se présente sous la forme d'une coloration diffuse continue des cellules des couches de cellules basales et parabasales de l'épithélium malpighien cervical, avec ou sans coloration des couches de cellules intermédiaires ou intermédiaires à superficielles. Cette coloration continue et diffuse représente un statut CINtec p16 Histology positif. La coloration focale se présente sous la forme d'une coloration non continue de cellules isolées ou de petits amas de cellules, à l'exclusion des cellules basales et parabasales. Une coloration focale et l'absence de coloration pour p16 correspondent au statut CINtec p16 Histology négatif. Les profils de coloration pour p16 et les critères définissant le statut CINtec p16 Histology sont synthétisés dans le Tableau 4.

Tableau 4. Statut CINtec p16 Histology et profils de coloration pour p16.

Statut CINtec p16 Histology	Profil de coloration pour p16	Description de la coloration
Positif	Diffuse	Coloration continue des cellules des couches de cellules basales et parabasales de l'épithélium malpighien cervical, avec ou sans coloration des couches de cellules intermédiaires ou intermédiaires à superficielles
Négatif	Focale	Coloration de cellules isolées ou de petits amas de cellules ; c.-à-d. coloration non continue, à l'exclusion des cellules basales et parabasales
	Aucune coloration pour p16	Réaction de coloration négative dans l'épithélium malpighien

LIMITES SPECIFIQUES

Le CINtec p16 Histology peut produire une coloration des fibroblastes et des cellules épithéliales prismatiques dans les tissus cervicaux, mais qui ne gêne pas l'interprétation.

Le système de détection OptiView est généralement plus sensible que le système de détection *ultraView*. L'utilisateur doit valider les résultats obtenus avec ce réactif et ces systèmes de détection.

Les tissus des patientes doivent être colorés dans les 24 semaines qui suivent la préparation des coupes à partir du bloc de tissu. Les performances de la coloration avec le CINtec p16 Histology sur des coupes ayant été conservées à température ambiante pendant plus de 24 semaines n'ont pas été vérifiées.

Les échantillons doivent être fixés pendant au moins 1 heure dans du NBF à 10 %, du formol-zinc ou du Z-fix, ou pendant au moins 3 heures dans de l'AFA. L'utilisation de temps de fixation et de types de fixateur autres que ceux recommandés peut entraîner des faux négatifs. La fixation à l'alcool formolé et au PREFER est déconseillée pour ce test.

Tous les tests ne sont pas forcément enregistrés sur chaque appareil. Contacter votre représentant Roche local pour plus d'informations.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

PERFORMANCES ANALYTIQUES

Des tests de coloration ont été réalisés pour évaluer la sensibilité, la spécificité, la précision et la justesse. Leurs résultats sont présentés ci-dessous.

Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité analytiques ont été déterminées par coloration de plusieurs cas de tissus humains normaux et néoplasiques avec le CINtec p16 Histology. Les résultats se trouvent dans le Tableau 5 et le Tableau 6. De nombreux tissus normaux présentaient une coloration de quelques cellules ou de types de cellules spécifiques, tel

qu'indiqué dans le tableau. Ce résultat n'est pas surprenant étant donné le rôle de la protéine p16^{INK4a} dans la régulation du cycle cellulaire.

Tableau 5. Sensibilité et spécificité du CINtec p16 Histology déterminées par coloration de tissus normaux FFPE.

Tissu	Nbre de positifs/nbre total	Cellules positives dans le tissu normal
Cerveau	4/4	Cellules gliales
Cervelet	3/3	Cellules de Purkinje
Glande surrénale	3/3	Cellules épithéliales corticosurrénales
Ovaire	3/3	Cellules stromales
Pancréas	3/3	Îlots de Langerhans, cellules acineuses
Ganglion lymphatique	3/3	Lymphocytes, cellules dendritiques folliculaires
Parathyroïde	2/3	Cellules principales
Hypophyse	3/3	Cellules épithéliales de l'adénohypophyse
Testicule	3/3	Cellules spermatogènes, cellules de Leydig
Thyroïde	3/3	Cellules folliculaires
Sein	3/3	Cellules myoépithéliales, cellules épithéliales luminales, cellules stromales
Rate	3/3	Lymphocytes, cellules dendritiques folliculaires
Amygdale	6/6	Cellules épithéliales pavimenteuses, lymphocytes, cellules dendritiques folliculaires
Thymus	3/3	Cellules réticulaires épithéliales, lymphocytes, corpuscules de Hassal
Moelle osseuse	2/3	Cellules myéloïdes
Poumon	3/3	Pneumocytes, cellules épithéliales bronchiques
Cœur	0/3	Aucune cellule positive
Œsophage	3/3	Cellules épithéliales malpighiennes
Estomac	3/3	Cellules épithéliales, glandes gastriques
Intestin grêle	3/3	Cellules épithéliales
Côlon	3/3	Cellules épithéliales
Appendice	0/3	Aucune cellule positive
Foie	0/3	Aucune cellule positive
Glande salivaire	3/3	Cellules épithéliales des canaux de Pflüger, cellules acineuses séreuses
Pharynx/Cavité buccale	2/3	Cellules épithéliales respiratoires, cellules épithéliales des canaux de Pflüger, cellules acineuses muqueuses, cellules acineuses séreuses
Rein	3/3	Cellules épithéliales tubulaires, cellules mésangiales glomérulaires
Prostate	3/3	Cellules acineuses, cellules basales
Vessie	3/3	Cellules urothéliales

Tissu	Nbre de positifs/nbre total	Cellules positives dans le tissu normal
Endomètre	3/3	Cellules glandulaires endométriales, cellules stromales
Col de l'utérus ^a	1/120	Cellules épithéliales malpighiennes
Muscle squelettique	0/3	Aucune cellule positive
Peau	0/3	Aucune cellule positive
Nerf	4/4	Cellules de Schwann
Mésothélium	0/3	Aucune cellule positive
Tissu mou	3/3	Cellules endothéliales, fibroblastes, cellules canalaire

^a Les tissus évalués comprennent des tissus de col de l'utérus normal et de col de l'utérus présentant une cervicite chronique. Les cas de cervicite ont été interprétés selon l'algorithme de notation du CINtec Histology qui comptabilise la coloration des cellules malpighiennes (coloration focale), endocervicales et stromales normales comme une coloration négative.

Tableau 6. Sensibilité et spécificité du CINtec p16 Histology déterminées par coloration de divers tissus néoplasiques FFPE.

Pathologie	Nbre de positifs/Nbre total
Glioblastome (cerveau)	1/1
Méningiome (cerveau)	1/1
Épendymome (cervelet)	1/1
Oligodendrogliome (cervelet)	1/1
Adénocarcinome (tête et cou)	1/1
Carcinome épidermoïde (tête et cou)	0/1
Carcinome séreux (ovaire)	1/1
Tumeur à cellules de la granulosa (ovaire)	1/1
Téatome (ovaire)	1/1
Néoplasme neuroendocrine pancréatique (pancréas)	1/1
Adénocarcinome canalaire (pancréas)	1/1
Séminome (testicule)	1/1
Carcinome embryonnaire (testicule)	1/1
Carcinome folliculaire (thyroïde)	1/1
Carcinome papillaire (thyroïde)	0/1
Carcinome canalaire in situ (sein)	1/1
Carcinome canalaire invasif (sein)	1/1
Carcinome lobulaire invasif (sein)	1/1
Adénome (glande surrénale)	1/1
Phéochromocytome (glande surrénale)	1/1
Lymphome diffus à grandes cellules B (rate)	0/1
Adénome pléomorphe (glande salivaire)	1/1
Tumeur de Warthin (glande salivaire)	1/1
Carcinome à petites cellules (poumon)	1/1
Carcinome épidermoïde (poumon)	0/1
Adénocarcinome (poumon)	1/1

Pathologie	N ^{bre} de positifs/N ^{bre} total
Carcinome épidermoïde (œsophage)	0/1
Adénocarcinome (œsophage)	1/1
Adénocarcinome (estomac)	1/1
Tumeur stromale gastro-intestinale (estomac)	1/1
Adénocarcinome (intestin grêle)	0/1
Tumeur stromale gastro-intestinale (intestin grêle)	1/1
Adénocarcinome (côlon)	1/1
Carcinome adénoquameux (côlon)	1/1
Tumeur carcinoïde (appendice)	1/1
Carcinome hépatocellulaire (foie)	1/1
Cholangiocarcinome (foie)	0/1
Carcinome à cellules rénales (rein)	1/2
Adénome papillaire rénal (rein)	1/1
Adénocarcinome (prostate)	2/2
Carcinome à cellules claires (utérus)	1/1
Carcinome endométrioïde (utérus)	1/1
Léiomyome (utérus)	0/1
Léiomyosarcome (utérus)	1/1
Néoplasie intraépithéliale cervicale I (CIN I) (col de l'utérus)	12/37
CIN I-II, limite entre bas et haut grade (col de l'utérus)	2/8
CIN II (col de l'utérus)	52/60
CIN II-III, haut grade (col de l'utérus)	1/3
CIN III (col de l'utérus)	65/67
Carcinome épidermoïde (col de l'utérus)	73/76
Carcinome adénoquameux (col de l'utérus)	2/2
Adénocarcinome (col de l'utérus)	1/1
Carcinome neuroendocrine (col de l'utérus)	1/1
Rhabdomyosarcome alvéolaire (muscle)	0/1
Myxome (muscle)	1/1
Carcinome basocellulaire (peau)	1/1
Mélanome invasif (peau)	1/1
Carcinome épidermoïde (peau)	0/1
Schwannome (nerf périphérique)	1/1
Neurofibrosarcome (nerf)	1/1
Lymphome anaplasique à grandes cellules (ganglion lymphatique)	1/1
Lymphome folliculaire (ganglion lymphatique)	1/1
Lymphome de Hodgkin (ganglion lymphatique)	1/1
Carcinome urothélial (vessie)	1/1
Carcinome épidermoïde (vessie)	0/1
Plasmocytome (extramédullaire)	1/1
Mésothéliome (mésothélium)	1/1
Tumeur fibreuse solitaire de la plèvre (mésothélium)	1/1

Pathologie	N ^{bre} de positifs/N ^{bre} total
Angiosarcome (tissu mou)	1/1
Liposarcome (tissu mou)	1/1

Précision interappareils

Deux études ont été réalisées pour évaluer la précision interappareils. Une première étude a été réalisée sur un appareil BenchMark XT et un appareil BenchMark ULTRA avec l'*ultraView* Universal DAB Detection Kit et une seconde sur un appareil BenchMark ULTRA avec l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit.

Dans la première étude, les sections de deux blocs multi-tissus contenant un carcinome épidermoïde cervical, une amygdale et un pancréas ont été colorées sur trois appareils BenchMark XT et trois appareils BenchMark ULTRA avec *ultraView* Universal DAB Detection Kit (cinq sections de chaque bloc multi-tissus par chaque appareil). Les intensités de la coloration pour p16 étaient à 0.5 point du score médian dans 100 % de tous les échantillons de tissus colorés sur les trois appareils BenchMark XT. Les intensités de la coloration pour p16 étaient à 0.5 point ou en deçà du score médian dans 100 % des échantillons de carcinome épidermoïde du col de l'utérus (15/15), 93 % des échantillons d'amygdale (14/15) et 93 % des échantillons de pancréas (14/15) colorés sur les trois appareils BenchMark ULTRA. Tous les échantillons de tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient un bruit de fond de coloration acceptable.

Dans la seconde étude, la précision du test CINtec p16 Histology a été déterminée sur trois appareils BenchMark ULTRA par coloration de deux lames de 28 cas cervicaux (huit cas de cols de l'utérus normaux, six cas de CIN1, six cas de CIN2, quatre cas de CIN3 et quatre cas de carcinome du col de l'utérus) avec le kit de détection *OptiView* DAB IHC. Chaque cas a été coloré sur chacun des trois appareils BenchMark ULTRA avec chacun des trois lots de CINtec p16 Histology. En tout, neuf lames de chaque cas colorées avec le CINtec p16 Histology ont été incluses dans l'étude (trois lots de CINtec p16 Histology, trois appareils BenchMark ULTRA). Chaque lame colorée avec le CINtec p16 Histology a ensuite été appariée à une lame colorée à l'H&E provenant du même cas. Toutes les lames ont été randomisées, puis l'intensité de leur coloration pour p16, leur statut CINtec p16 Histology positif ou négatif et leur bruit de fond ont été évalués par un même anatomopathologiste mis en aveugle. Les données ont montré que 97.6 % des tissus présentaient des scores d'intensité de coloration inférieurs à 0.5 point pour tous les appareils. De plus, 100 % de coupes colorées avec le CINtec p16 Histology sur les trois appareils BenchMark ULTRA présentaient le même statut CINtec p16 Histology. Tous les échantillons de tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient un bruit de fond de coloration acceptable.

De plus, la précision intermédiaire interappareils BenchMark ULTRA PLUS a été déterminée sur trois appareils BenchMark ULTRA PLUS par coloration de deux lames par appareil de 24 cas de tissus cervicaux (onze tissus cervicaux normaux, un CIN1, deux CIN2, sept CIN3 et trois carcinomes épidermoïdes). Les lames de test ont été randomisées puis évaluées par un seul anatomopathologiste mis en aveugle du diagnostic du cas pour le statut CINtec p16 Histology positif ou négatif, la morphologie et les colorations non spécifiques (fond). Le taux de concordance globale était de 99.3 %. Tous les tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient une morphologie et un bruit de fond de coloration 100 % acceptables.

Précision interlots

La précision interlots du CINtec p16 Histology a été évaluée en testant trois lots du CINtec p16 Histology sur un appareil BenchMark ULTRA avec l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit. Des coupes de chacun des 26 échantillons de tissu de biopsie cervicale (six cols normaux, six CIN1, six CIN2, six CIN3, et deux cas de carcinome cervical) ont été colorées en double en utilisant chaque lot de CINtec p16 Histology. Chaque lame de tissu colorée avec CINtec p16 Histology a été appariée avec une lame H&E adjacente, et une lame de contrôle réactif négative provenant du même cas. Les jeux de lames ont été randomisés et ont été évalués par un même anatomopathologiste tenu dans l'ignorance du diagnostic des cas et du numéro de lot. Le statut CINtec p16 Histology (positif = coloration pour p16 diffuse, négatif = coloration focale ou absence de coloration pour p16) a été déterminé d'après le résultat de la lecture de la lame colorée avec le CINtec p16 Histology. Les catégories CIN [CIN2+ (CIN2, CIN3, adénocarcinome in situ ou carcinome invasif combinés en une seule catégorie) / CIN1- (pas de CIN ou CIN1 combinés en une seule catégorie)] ont été déterminées sur la base d'une interprétation adjuvante des lames H&E et CINtec p16 Histology. Les résultats démontrent la reproductibilité de CINtec p16 Histology sur trois lots de production de l'anticorps. Pour tous les cas, le taux de

concordance du statut CINtec p16 Histology pour les cas positifs et les cas négatifs était de 100 %, et le taux de concordance de la catégorie des lésions CIN était de 98.7 % avec les trois lots de production. Une synthèse des données est présentée dans le Tableau 7. Le bruit de fond de coloration était acceptable dans 100 % des tissus colorés.

Tableau 7. Reproductibilité interlots de l'anticorps primaire du CINtec p16 Histology sur des échantillons cervicaux mesurée en fonction du statut CINtec p16 Histology (positif/négatif) et de la catégorie des lésions CIN (CIN2+/CIN1-).

Reproductibilité	Évaluation	Concordance positive moyenne (n/N)	Concordance négative moyenne (n/N)	Taux de concordance globale (n/N)
Interlots	Statut CINtec Histology	100,0 % (352/352)	100,0 % (264/264)	100,0 % (308/308)
	Catégorie CIN	98,1 % (314/320)	98,0 % (290/296)	98,1 % (302/308)

Répétabilité intrajour et précision interjours

En tout, trois études ont été réalisées pour évaluer la répétabilité intrajour et la précision interjours. Dans les deux premières études, l'anatomopathologiste a évalué les tissus en fonction des intensités de la coloration pour p16 (0-4), tandis que dans la troisième étude le statut CINtec p16 Histology (positif/négatif) des biopsies cervicales a été évalué.

Dans la première étude, les sections de deux blocs multi-tissus contenant trois tissus (carcinome épidermoïde cervical, amygdale, pancréas) ont été colorées sur un appareil BenchMark XT avec *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Dans la seconde étude, deux blocs multi-tissus contenant une amygdale, un pancréas et trois cas de col de l'utérus (carcinome épidermoïde invasif, CIN1-, CIN2+) ont été colorés sur un appareil BenchMark ULTRA avec *OptiView* DAB IHC Detection Kit. La répétabilité intrajour de CINtec p16 Histology a été testée en colorant 14 sections répétées de chaque bloc multi-tissus avec CINtec p16 Histology. Dans les deux études, le CINtec p16 Histology a satisfait aux critères d'acceptation avec 100 % des intensités de la coloration des tissus à 0.5 point ou en deçà du score médian d'intensité de la coloration. La précision interjours a été testée lors de cinq jours non consécutifs sur une période minimale de 20 jours. Dans ces deux études, le CINtec p16 Histology a satisfait aux critères d'acceptation avec 100 % des intensités de la coloration des tissus à 0.5 point ou en deçà du score médian d'intensité de la coloration pour la répétabilité intrajour et la précision interjours. Tous les échantillons de tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient un bruit de fond de acceptable.

La troisième étude a consisté à évaluer le statut CINtec p16 Histology (positif/négatif) de 24 échantillons de tissu cervical (trois cas de carcinome épidermoïde cervical, six cas de CIN3, six cas de CIN2, six de CIN1 et trois cas de col de l'utérus normal) colorés à l'aide du CINtec p16 Histology sur un appareil BenchMark ULTRA avec l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit. Les tests ont été réalisés sur cinq jours non consécutifs couvrant une période minimale de 20 jours. Lors de chaque jour de coloration, deux lames de chaque cas ont été colorées avec le CINtec p16 Histology (150 lames au total), et une lame de chaque cas a été colorée avec un réactif de contrôle négatif (75 lames au total). Les analyses de la répétabilité intrajour ont consisté à comparer les statuts CINtec p16 Histology (positif/négatif) de deux lames évaluables d'un même cas colorées lors d'un même jour. Étant donné que l'étude portait sur cinq jours, le nombre total de comparaisons pour chaque cas pour la répétabilité intrajour était de cinq. Le nombre total de comparaisons pour l'étude de précision interjours était de 120 = 24 cas x 5 comparaisons par cas.

Les résultats indiquaient une répétabilité intrajour de 100 % et une précision interjours de 100 % lorsque les tissus étaient évalués en fonction du statut CINtec p16 Histology. Toutes les coupes colorées avec le CINtec p16 Histology présentaient un bruit de fond de coloration acceptable.

De plus, la répétabilité intracycle a été déterminée par coloration de cinq lames de 24 cas de tissu cervical (onze cols de l'utérus normaux, un CIN1, deux CIN2, sept CIN3 et trois carcinomes épidermoïdes) sur un appareil BenchMark ULTRA PLUS. Les lames de test ont été randomisées puis évaluées par un seul anatomopathologiste mis en aveugle du diagnostic du cas pour le statut CINtec p16 Histology positif ou négatif, la morphologie et les colorations non spécifiques (fond). Le taux de concordance globale était de 97.5 %. Tous les tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient une morphologie et un bruit de fond de coloration 100 % acceptables.

Par ailleurs, la précision intermédiaire interjournalière a été déterminée par coloration de deux lames de 24 cas de tissu cervical (onze cols de l'utérus normaux, un CIN1, deux CIN2, sept CIN3 et trois carcinomes épidermoïdes) sur un appareil BenchMark ULTRA PLUS lors de cinq jours non consécutifs sur une période d'au moins 20 jours. La précision intermédiaire interjournalière était de 98.8 %. Tous les tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient une morphologie et un bruit de fond de coloration 100 % acceptables.

Exactitude interplateformes et interkits de détection

L'exactitude du test a été démontrée sur les plateformes BenchMark ULTRA, BenchMark XT et BenchMark GX avec l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit et l'*ultraView* Universal DAB Detection Kit. Au total, 186 cas de col de l'utérus ont été colorés avec CINtec p16 Histology et évalués pour le statut de CINtec p16 Histology (positif/négatif) et le fond (acceptable/inacceptable). L'OPA était de 98.3-100 % pour chaque combinaison de paire de plateformes avec l'un des kits de détection et pour chaque combinaison de paire de kits de détection avec l'une des plateformes. Tous les cas colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient un bruit de fond de coloration acceptable.

De plus, une étude a été réalisée en vue de comparer les performances de la coloration à l'aide du CINtec p16 Histology et de l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit sur l'appareil BenchMark ULTRA PLUS et sur l'appareil BenchMark ULTRA. Cent vingt (120) cas de tissu cervical (60 positifs pour CINtec p16 Histology et 60 négatifs pour CINtec p16 Histology) ont été colorés, et les lames colorées ont été évaluées par un anatomopathologiste qui a déterminé le statut CINtec p16 Histology. Le taux de concordance globale était de 99.1 %. Tous les tissus colorés avec le CINtec p16 Histology présentaient une morphologie et un bruit de fond de coloration 100 % acceptables.

Précision intralecteur et précision interlecteurs

Les précisions intralecteur et interlecteurs ont été évaluées sur 50 cas cervicaux (16 cas de col de l'utérus normal, 12 cas CIN1, 12 cas CIN2, 6 cas CIN3 et 4 cas de carcinome du col de l'utérus) colorés avec le CINtec p16 Histology sur un appareil BenchMark ULTRA avec l'*OptiView* DAB IHC Detection Kit.

Toutes les lames ont été randomisées, puis évaluées par trois anatomopathologistes pour déterminer le statut positif/négatif à CINtec p16 Histology. Les anatomopathologistes ont été mis en aveugle quant au diagnostic du cas. Les lames colorées avec le CINtec p16 Histology ont été de nouveau randomisées pour une seconde évaluation du statut CINtec p16 Histology par chacun des trois anatomopathologistes suite à une période de quatre semaines sans évaluation. Le taux de concordance global pour la précision intralecteur et interlecteurs pour le statut CINtec p16 Histology était de 98.7 %, comme indiqué dans le Tableau 8.

Dans l'étude de précision intralecteur et interlecteurs pour la catégorie des lésions CIN, chaque lame colorée avec le CINtec p16 Histology a été appariée avec une lame colorée à l'HE du même cas, puis les jeux de lames appariées ont été randomisés. La catégorie des lésions CIN (CIN2+/CIN1-) a été évaluée par trois anatomopathologistes d'après l'interprétation complémentaire des lames colorées à l'HE et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology. Suite à une période sans évaluation d'au moins quatre semaines, les paires de lame ont été de nouveau randomisées, et une seconde évaluation de la catégorie des lésions CIN a été réalisée par chacun des trois anatomopathologistes. Les données présentées dans le Tableau 8 indiquent que le taux de concordance globale entre les catégories de lésions CIN déterminées était de 98.0 et 90 % pour, respectivement, la précision intralecteur et la précision interlecteurs.

Tableau 8. Précisions intralecteur et interlecteurs du test CINtec p16 Histology sur des échantillons cervicaux mesurées en fonction du statut CINtec p16 Histology (positif/négatif) et de la catégorie des lésions CIN (CIN2+/CIN1-).

Précision du lecteur	Évaluation	Concordance positive moyenne (CI à 95 %)	Concordance négative moyenne (CI à 95 %)	Taux de concordance globale (CI à 95 %)
Intralecteur	Statut CINtec p16 Histology	98.7 % (93.9-100.0 %)	98.6 % (93.0-100.0 %)	98.7 % (94.0-100.0 %)
	Catégorie CIN	97.4 % (89.1-100.0 %)	98.4 % (92.6-100.0 %)	98.0 % (92.0-100.0 %)
Interlecteurs	Statut CINtec p16 Histology	98.7 % (93.1-100.0 %)	98.6 % (92.3-100.0 %)	98.7 % (93.9-100.0 %)

Précision du lecteur	Évaluation	Concordance positive moyenne (CI à 95 %)	Concordance négative moyenne (CI à 95 %)	Taux de concordance globale (CI à 95 %)
	Catégorie CIN	87.0 % (71.8-97.6 %)	91.9 % (83.0-98.5 %)	90.0 % (80.0-98.0 %)

Étude de reproductibilité (étude de précision interlaboratoires)

Une étude de reproductibilité interlaboratoires du test CINtec p16 Histology a été réalisée en vue de démontrer la reproductibilité du test en ce qui concerne la détermination du statut CINtec p16 Histology et de la catégorie des lésions CIN ; 27 cas cervicaux (10 cas d'absence de CIN, cinq cas CIN1, cinq cas CIN2, cinq cas CIN3 et deux cas de carcinome du col de l'utérus) ont été colorés sur trois appareils BenchMark ULTRA lors de trois jours non consécutifs dans trois laboratoires externes. Les échantillons ont été randomisés et évalués par un total de six anatomopathologistes (deux anatomopathologistes par centre) pour déterminer leur statut CINtec p16 Histology (positif/négatif) et leur catégorie CIN (CIN2+/CIN1-) par interprétation complémentaire des lames colorées à l'H&E et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology. Les anatomopathologistes ont été mis en aveugle quant au diagnostic du cas. Les résultats de la détermination du statut CINtec p16 Histology et de la catégorie des lésions CIN se trouvent, respectivement, dans le Tableau 9 et dans le Tableau 10. Par ailleurs, les taux d'acceptabilité de la morphologie et du bruit de fond de coloration pour les six anatomopathologistes de tous les centres étaient de, respectivement, 96.3 et 97.1 %. Les données indiquent une excellente concordance de la reproductibilité du test dans l'ensemble des centres, sur tous les jours et avec tous les anatomopathologistes.

Tableau 9. Reproductibilité interlaboratoires : concordance des statuts CINtec p16 Histology (positif/négatif) des échantillons cervicaux.

Taux de concordance pour la Reproductibilité interlaboratoires (statut CINtec p16 Histology)	Concordance positive moyenne	Concordance négative moyenne	Taux de concordance globale
Intercentres (3 centres)	96,2 % (91.2-99.3 %)	93,9 % (86.3-99.0 %)	95,3 % (90.6-99.2 %)
Interjours (3 jours non consécutifs)	98,2 % (95.9-99.7 %)	97,1 % (93.3-99.5 %)	97,8 % (95.5-99.5 %)
Interlecteurs (2 anatomopathologistes/centre)	95,5 % (87.8-100.0 %)	92,9 % (82.6-100.0 %)	94,4 % (87.1-100.0 %)

Tableau 10. Reproductibilité interlaboratoires : concordance des catégories CIN (CIN2+/CIN1-) des échantillons cervicaux déterminées par interprétation complémentaire des lames colorées à l'H&E et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology.

Taux de concordance pour la Reproductibilité interlaboratoires (catégorie CIN)	Concordance positive moyenne	Concordance négative moyenne	Taux de concordance globale
Intercentres (3 centres)	94,4 % (86.8-98.8 %)	94,1 % (86.7-98.6 %)	94,3 % (88.5-98.6 %)
Interjours (3 jours non consécutifs)	96,9 % (93.1-99.2 %)	96,6 % (93.0-99.1 %)	96,8 % (94.0-99.1 %)
Interlecteurs (2 anatomopathologistes/centre)	95,0 % (87.4-98.9 %)	94,8 % (88.6-98.9 %)	94,9 % (89.3-98.7 %)

PERFORMANCES CLINIQUES

Concordance des diagnostics

L'étude CERvical Tissue Adjunctive aNalysis (CERTAIN) a été menée pour montrer que la lecture complémentaire des résultats des colorations avec le CINtec p16 Histology permet d'améliorer l'uniformité du diagnostic de la néoplasie intraépithéliale cervicale (CIN) et le taux de concordance entre les lectures des tissus de biopsie cervicale au punch des anatomopathologistes de ville (Community Pathologists [CP]) et des anatomopathologistes hospitaliers experts (Expert Pathologists [XP]).

L'étude clinique CERTAIN a été réalisée sur 1100 échantillons FFPE de biopsie cervicale au punch collectés rétrospectivement, qui représentent une population de référence en colposcopie. Un diagnostic de référence dérivé des XP a été établi pour chaque cas d'étude en utilisant uniquement les lames colorées par H&E et en utilisant les lames colorées par H&E et CINtec p16 Histology. Deux XP ont établi leurs diagnostics indépendants (absence de CIN, CIN1, CIN2, CIN3, adénocarcinome in situ ou carcinome invasif) à partir des lames colorées à l'H&E pour chacun des 1100 cas. Les informations cliniques suivantes ont également été communiquées aux anatomopathologistes : l'âge de la patiente, le résultat du frottis cervico-vaginal et le résultat du test de dépistage du PVH (si disponible). Les cas discordants ont été évalués par un troisième XP. Les cas pour lesquels un diagnostic majoritaire de deux sur trois n'a pas été obtenu ont été examinés lors d'une réunion d'examen décisionnel qui comprenait les trois XP. Les résultats majoritaires (ou consensuels) établissaient le diagnostic de référence dérivé des experts pour chaque cas évalué dans l'étude (désigné XP1 ou diagnostic de référence HE). Après un minimum de quatre semaines sans évaluation, les mêmes XP ont évalué les lames colorées à l'H&E et les lames colorées avec le CINtec p16 Histology pour établir leur diagnostic : absence de CIN, histologie LSIL/CIN1, histologie HSIL/CIN2, histologie HSIL/CIN3, adénocarcinome in situ ou carcinome invasif (désigné XP2 ou diagnostic de référence HE + CINtec p16 Histology). La procédure d'établissement des diagnostics majoritaires a été la même que celle utilisée pour établir le diagnostic de référence sur les lames colorées par H&E uniquement. Soixante-dix (70) CP inscrits au tableau de l'Ordre des médecins dans l'ensemble des États-Unis ont participé à l'étude. Dans la première série (série 1, CP1), les 1100 cas colorés à l'H&E ont été divisés en quatre ensembles de lecture de 275 cas avec des distributions comparables des différentes catégories de diagnostic par diagnostic de référence. Les 70 CP ont été répartis en quatre groupes composés de 17 ou 18 anatomopathologistes par groupe. Pour chaque cas de l'ensemble de lecture qui était attribué aux anatomopathologistes, les informations cliniques suivantes étaient communiquées aux anatomopathologistes : l'âge de la patiente, le résultat du frottis cervico-vaginal et le résultat du test de dépistage du PVH (si disponible). Les CP ont rendu indépendamment leurs diagnostics sur la lame colorée à l'H&E de chacun des cas qui leur étaient attribués : absence de CIN, CIN1, CIN2, CIN3, adénocarcinome in situ ou carcinome invasif. Chaque cas de l'étude a ainsi été lu individuellement par 17 ou 18 anatomopathologistes de ville.

Dans la seconde série (série 2, CP2), les CP ont lu les lames colorées à l'H&E conjointement aux lames appariées correspondantes colorées avec le CINtec p16 Histology du même ensemble de cas de l'ensemble de lecture qui leur était attribué. Après une période sans lecture d'au moins quatre semaines entre la série 1 et la série 2, chaque anatomopathologiste a rendu indépendamment ses diagnostics : absence de CIN, histologie LSIL/CIN1, histologie HSIL/CIN2, histologie HSIL/CIN3, adénocarcinome in situ ou carcinome invasif. Les CP ont noté le statut CINtec p16 Histology (CINtec p16 Histology positif = coloration p16 diffuse ; CINtec p16 Histology négatif = coloration p16 focale ou absence), ainsi que leur diagnostic histologique en utilisant à la fois la lame colorée par H&E et la lame colorée par CINtec p16 Histology. L'objectif principal de cette étude était de démontrer l'amélioration de la concordance des diagnostics sans compromettre le taux de concordance positive, c'est-à-dire la probabilité qu'un résultat positif corresponde à un diagnostic de ≥ CIN2 (CIN2, CIN3, adénocarcinome in situ, ou carcinome invasif combinés en une seule catégorie) ou ≤ CIN1 (absence de CIN ou de CIN1 combinés en une seule catégorie) sur la base de lames colorées par H&E (série 1) par rapport à l'interprétation des lames colorées par H&E avec des lames colorées par CINtec p16 Histology (série 2).

Amélioration de la précision diagnostique des anatomopathologistes experts

L'amélioration de la justesse des diagnostics des anatomopathologistes hospitaliers experts a été déterminée par comparaison du diagnostic de référence HE des anatomopathologistes hospitaliers experts (XP1) au diagnostic de référence HE et CINtec p16 Histology des anatomopathologistes hospitaliers experts (XP2). L'analyse a porté sur l'interprétation des 1100 biopsies cervicales. Les données sur l'amélioration de la justesse des diagnostics entre le diagnostic de référence HE des anatomopathologistes

hospitaliers experts et le diagnostic de référence HE et CINtec p16 Histology des anatomopathologistes hospitaliers experts se trouvent dans le Tableau 11. Lorsque les colorations à l'H&E et avec le CINtec p16 Histology étaient toutes les deux utilisées pour l'interprétation diagnostique des biopsies cervicales, les XP ont identifié 23.7 % plus de cas de ≥ CIN2 que lors de l'interprétation diagnostique avec la seule coloration à l'H&E.

Tableau 11.Concordance entre le diagnostic de référence H&E et le diagnostic de référence H&E et CINtec p16 Histology pour tous les cas.

		Diagnostic de référence HE					Total
		Absence de CIN	CIN1	CIN2	CIN3	ACIS* ou cancer	
Diagnostic de référence HE + CINtec p16 Histology	Absence de CIN	693	13	4	0	0	710
	Histologie LSIL	46	120	4	1	0	171
	Histologie HSIL	30	31	83	69	1	214
	ACIS* ou cancer	0	0	0	0	5	5
Total		769	164	91	70	6	1100

* ACIS : adénocarcinome in situ

Comparaison de l'interprétation des lames HE et de l'interprétation des lames HE et CINtec p16 Histology par les anatomopathologistes de ville (CP) avec le diagnostic de référence HE dérivé des experts

La concordance des diagnostics des anatomopathologistes de ville a été déterminée par comparaison des diagnostics HE de la série 1 des anatomopathologistes de ville (CP1) au diagnostic de référence HE des anatomopathologistes hospitaliers experts (XP1) et par comparaison des diagnostics HE + CINtec p16 Histology de la série 2 des anatomopathologistes de ville (CP2) au diagnostic de référence HE des anatomopathologistes hospitaliers experts (XP1). Les taux de concordance et les intervalles de confiance (CI) moyennés entre le cas et le lecteur sont présentés dans le Tableau 12. Une augmentation statistiquement significative du PPA, la mesure pour la détection des lésions ≥ CIN2 (+6.8 %, CI à 95 % : 4.7 à 9.0 %), a été observée. En outre, le taux de concordance négative (NPA), à savoir pour la détection des lésions ≤ CIN1, a augmenté de 1.3 % (CI à 95 % : 0.5 à 2.3 %).

Tableau 12.Taux de concordance positive et négative entre le diagnostic de référence HE dérivé des experts (XP1) et les résultats des anatomopathologistes de ville pour d'une part les lectures des seules lames colorées à l'HE et d'autre part les lectures conjointes des lames colorées à l'HE et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology.

Critère d'évaluation	HE	HE + CINtec p16 Histology	Différence	Valeur p
PPA % (CI à 95 %)	83.5 % (79.9, 86.8)	90.3 % (87.5, 92.7)	6.8 % (4.7, 9.0)	< .0001
NPA % (CI à 95 %)	90.4 % (89.4, 91.4)	91.8 % (90.6, 92.9)	1,3 % (0.5, 2.3)	0.0032

Remarque : La différence n'est pas égale à 1.4 % à cause d'une erreur d'arrondissement : H&E = 90.44 %, H&E + CINtec Histology = 91.76 %, différence = 1.32 %.

Un diagramme récapitulatif de la justesse des diagnostics de chaque anatomopathologiste de ville déduite de la comparaison avec le diagnostic de référence HE dérivé des experts du diagnostic d'une part des lésions ≥ CIN2 et d'autre part des lésions ≤ CIN1, établi à partir d'une part les seules lames colorées à l'HE et d'autre part les lames colorées à l'HE lues conjointement aux lames colorées avec le CINtec p16 Histology, se trouve à la Figure 2. Les PPA et NPA (taux de concordance négative, c'est-à-dire la concordance d'un résultat de test négatif avec ≤ CIN1 par les XP1) de l'interprétation par chaque anatomopathologiste pour la série 1 (lames colorées par HE uniquement – cercles bleus)

par rapport à la série 2 (lames colorées par HE avec des lames colorées par CINtec p16 Histology – triangles rouges) sont présentés. Les ellipses d'intervalle de prédiction indiquent l'intervalle de performance attendu du PPA et du NPA pour la plupart des anatomopathologistes : 80 % devraient se situer à l'intérieur des ellipses, et 20 % devraient se situer à l'extérieur des ellipses. Ces données démontrent que l'interprétation des biopsies cervicales à l'aide d'HE et de lames colorées CINtec p16 Histology permet d'améliorer la concordance diagnostique et de réduire la variabilité entre les lecteurs.

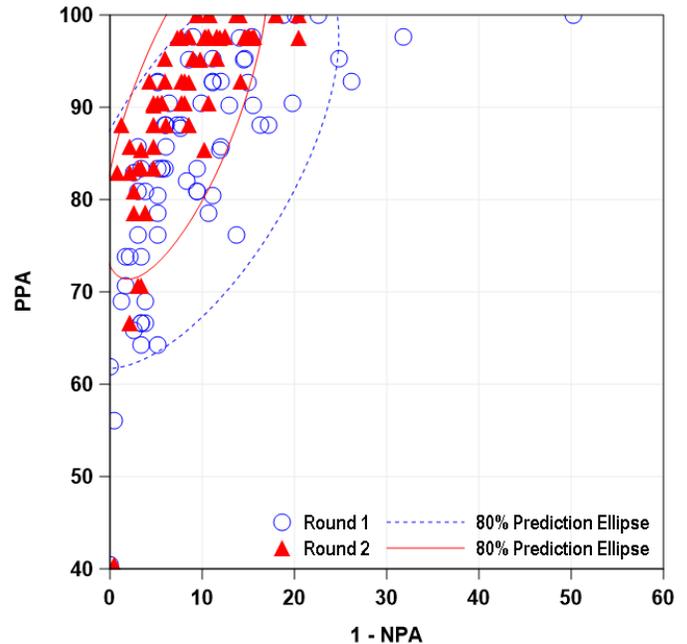


Figure 2.Diagramme récapitulatif de la concordance (PPA et 1 NPA) entre les diagnostics des anatomopathologistes de ville d'une part de lésions ≥ CIN2 et d'autre part de lésions ≤ CIN1, établis à partir d'une part les seules lames colorées à l'HE (série 1) et d'autre part les lames colorées à l'HE lues conjointement aux lames colorées avec le CINtec p16 Histology (série 2), et le diagnostic de référence H&E dérivé des experts (XP1) (ellipses d'intervalle de prédiction à 80 % fondées sur l'hypothèse d'une distribution normale bivariée).

Comparaison entre l'interprétation des anatomopathologistes de villes avec HE, et HE et CINtec p16 Histology et un diagnostic de référence HE + CINtec p16 Histology dérivé des experts.

Les résultats des lectures des anatomopathologistes de ville à l'aide des deux méthodes (HE + CINtec p16 Histology et coloration HE seule) ont ensuite été comparés au diagnostic de référence (XP2) établi par les anatomopathologistes hospitaliers experts à partir des lames colorées à l'HE et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology. Les anatomopathologistes experts ont été mis en aveugle par rapport aux résultats de leur première série de mesures individuelles et au diagnostic de référence HE consensuel. La procédure d'établissement des diagnostics consensuels était la même que la procédure décrite plus haut pour l'établissement du diagnostic de référence HE.

Les résultats des anatomopathologistes de ville pour d'une part les lectures des seules lames colorées à l'HE et d'autre part les lectures conjointes des lames colorées à l'HE et des lames colorées avec le CINtec p16 Histology ont été analysés et comparés au diagnostic de référence HE et CINtec p16 Histology dérivé des experts (Tableau 13). Ces données indiquent une augmentation statistiquement significative du PPA (+11.5 %, CI à 95 % : 9.3 à 13.5 %) et du NPA (+3.0 %, CI à 95 % : 2.2 à 3.7 %).

Tableau 13.Taux de concordance positive (PPA) et négative (NPA) entre les lectures des anatomopathologistes de ville réalisées d'une part sur les seules lames colorées à l'HE et d'autre part sur les lames colorées à l'HE et les lames colorées avec le CINtec p16

Histology et le diagnostic de référence HE et CINtec p16 Histology dérivé des experts (XP2).

Critère d'évaluation	HE	HE + CINtec p16 Histology	Différence	Valeur p
PPA % (CI à 95 %)	73,3 % (69,6, 76,9)	84,8 % (82,1, 87,1)	11,5 % (9,3, 13,5)	< .0001
NPA % (CI à 95 %)	92,2 % (91,3, 93,1)	95,2 % (94,4, 96,0)	3,0 % (2,2, 3,7)	< .0001

Un diagramme récapitulatif de la justesse des diagnostics de chaque anatomopathologiste de ville déduite de la comparaison avec le diagnostic de référence HE + CINtec p16 Histology dérivé des experts du diagnostic d'une part de lésions ≥ CIN2 et d'autre part de lésions ≤ CIN1, établi à partir d'une part les seules lames colorées à l'HE et d'autre part les lames colorées à l'HE lues conjointement aux lames colorées avec le CINtec p16 Histology, se trouve à la Figure 3. Les PPA et NPA de l'interprétation par chaque anatomopathologiste pour la série 1 (HE uniquement – cercles bleus) par rapport à la série 2 (HE et CINtec p16 Histology – triangles rouges) sont présentés. Les ellipses d'intervalle de prédiction indiquent l'intervalle de performance attendue du PPA et du NPA pour la plupart des anatomopathologistes : 80 % devraient se situer à l'intérieur des ellipses, et 20 % devraient se situer à l'extérieur des ellipses. Ces données démontrent que l'interprétation des biopsies cervicales à l'aide d'HE et de lames colorées CINtec p16 Histology permet d'améliorer l'uniformité des diagnostics et de réduire la variabilité entre les lecteurs.

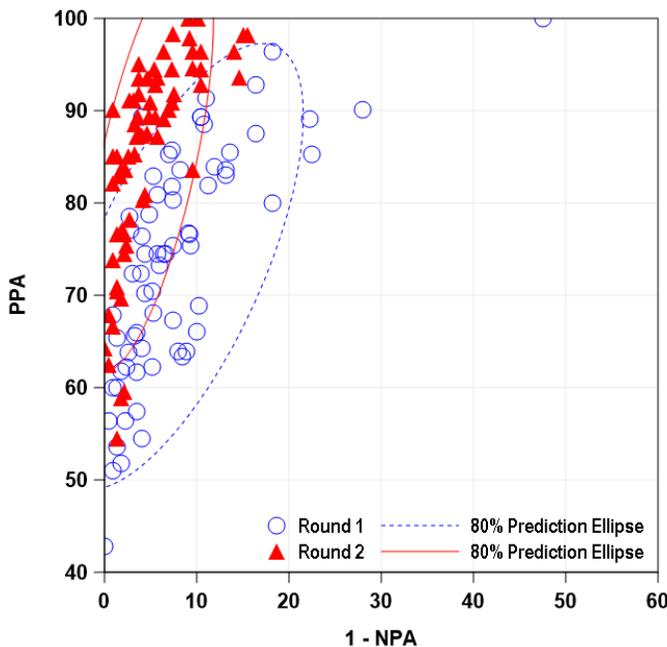


Figure 3. Diagramme récapitulatif de la concordance (PPA et 1 NPA) entre les diagnostics des anatomopathologistes de ville d'une part des lésions ≥ CIN2 et d'autre part des lésions ≤ CIN1, établis à partir d'une part les seules lames colorées à l'HE (série 1) et d'autre part les lames colorées à l'HE lues conjointement aux lames colorées avec le CINtec p16 Histology (série 2), et le diagnostic de référence H&E et CINtec p16 Histology dérivé des experts (XP2) (ellipses d'intervalle de prédiction à 80 % fondées sur l'hypothèse d'une distribution normale bivariée).

Performances de la coloration avec le CINtec p16 Histology.

L'objectif secondaire de cette étude était de faire évaluer les performances de coloration avec le test CINtec p16 Histology par les anatomopathologistes de ville lors de l'examen des lames de l'étude. Au total, 19 250 interprétations du statut CINtec p16 Histology ont été rendues lors de l'étude par les 70 anatomopathologistes de ville. Les critères de performance de la coloration évalués étaient l'acceptabilité globale de la coloration,

l'acceptabilité du bruit de fond de coloration et l'acceptabilité de la morphologie. Les résultats indiquent des taux d'acceptabilité > 99 % pour tous les critères de coloration (Tableau 14).

Tableau 14. Performances de la coloration avec le CINtec p16 Histology.

Critère d'évaluation	Nombre d'interprétations n/N	Taux
Acceptabilité de la coloration	19074/19250	99,09 %
Acceptabilité de la morphologie	19249/19250	99,99 %
Acceptabilité du bruit de fond	19249/19250	99,99 %

Conclusions

L'utilisation de lames colorées avec le CINtec p16 Histology en complément de l'interprétation des lames colorées à l'HE permet d'augmenter la concordance des diagnostics de détection de lésions CIN de haut grade (≥ CIN2) sur les biopsies cervicales au punch. Cette amélioration de la concordance est due à la fois à l'augmentation de la PPA (la concordance d'un résultat de test positif avec un diagnostic ≥ CIN2) et de la NPA (la concordance d'un résultat de test négatif avec un diagnostic CIN1 ou absence de CIN). En outre, la cohérence des diagnostics des anatomopathologistes de ville entre eux et avec un groupe d'experts s'améliore.

REFERENCES

- Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol.* 1998;153:1741-1748.
- Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:187-193.
- von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. *Arch Med Res.* 2009;40(6):435-442.
- Voorhoeve PM, Agami R. The tumor-suppressive functions of the human INK4A locus. *Cancer Cell.* 2003;4:311-319.
- Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16(INK4a) as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer.* 2001;92:276-284.
- Negri G, Vittadello F, Romano F, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch.* 2004;445:616-620.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-330.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:2536-2545.
- Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and metaanalysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35:210-220.
- Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16(INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. *J Clin Pathol.* 2010;63(11):972-977.
- Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing highgrade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol.* 2010;133:395-406.
- Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:1077-1087.
- Stoler MH, Wright TC, Ferenczy A, et al. Routine Use of Adjunctive p16 Immunohistochemistry Improves Diagnostic Agreement of Cervical Biopsy Interpretation. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(8):1001-1009.
- Massad LS, Einstein M, Huh W, et al. 2012 Updated Consensus Guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17:S1-S27.

15. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: metaanalysis. *BMJ*. 2008;337:a1284.
16. Albrechtsen S, Rasmussen S, Thoresen S, et al. Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study. *BMJ*. 2008;337:a1343.
17. Sadler L, Safflas A, Wang W, et al. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA*. 2004;291:2100-2106.
18. Park KJ, Soslow RA. Current concepts in cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2009;133(5):729-738.
19. Stoler MH, Schiffman M. Atypical squamous cells of undetermined significance-lowgrade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. *JAMA*. 2001;285:1500-1505.
20. Stoler MH, Ronnett BM, Joste NE, et al. New Mexico HPV Pap registry steering committee. The interpretive variability of cervical biopsies and its relationship to HPV status. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(6):729-736.
21. Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:1389-1399.
22. Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. p16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: A systematic review and metaanalysis of the interobserver agreement. *Am J Clin Pathol*. 2014;142(6):767-772.
23. De Vet HCW, Knipschild PG, Schouten HJA, et al. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol*. 1990;43:1395-1398.
24. Creagh T, Bridger JE, Kupek E, et al., Pathologist variation in reporting cervical borderline epithelial abnormalities and cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol*, 1995. 48(1): p. 59-60.
25. Ceballos KM, Chapman W, Daya D, et al., Reproducibility of the histological diagnosis of cervical dysplasia among pathologists from 4 continents. *Int J Gynecol Pathol*, 2008. 27(1): p. 101-107.
26. Gurrola-Díaz CM, Suárez-Rincón AE, Vázquez-Camacho G, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves the reproducibility of the histological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cone biopsies. *Gynecol Oncol*. 2008;111:120-124.
27. Hom LC, Reichert A, Oster A, Arndal SF, et al. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*. 2008;32:502-512.
28. Sayed K, Korourian S, Ellison DA, et al. Diagnosing cervical biopsies in adolescents: the use of p16 immunohistochemistry to improve reliability and reproducibility. *J Low Genit Tract Dis*. 2007;11:141-146.
29. Carson FL, Cappellano C. *Histotechnology; A Self-Instructional Text*, 5th edition. American Society for Clinical Pathology Press; 2020, 2022.
30. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). *Fed. Register*.
31. 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.
32. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

REMARQUE : Un point est toujours utilisé dans ce document comme séparateur décimal et indique la séparation entre la partie entière et la partie décimale d'un nombre. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Le résumé des résultats sur la sécurité et les performances est disponible ici :

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

Symboles

Ventana utilise les symboles et les signes suivants en plus de ceux indiqués dans la norme ISO 15223-1 (pour les USA, voir elabdoc.roche.com/symbols pour de plus amples informations) :



Le Global Trade Item Number ou code article international

Rx only

Pour les USA : Attention : La loi fédérale stipule que ce produit peut uniquement être vendu par un médecin ou sur prescription médicale.

HISTORIQUE DES REVISIONS

Rév.	Mises à jour
H	Mises à jour de la rubrique Avertissements et précautions d'emploi, ajout de la déclaration Rx only et mise à jour avec les modèles actuels.

PROPRIETE INTELLECTUELLE

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC, OPTIVIEW et ULTRAVIEW sont des marques commerciales de Roche. Toutes les autres marques commerciales appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

COORDONNEES



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, AZ 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



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

