

CINtec® p16 Histology

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

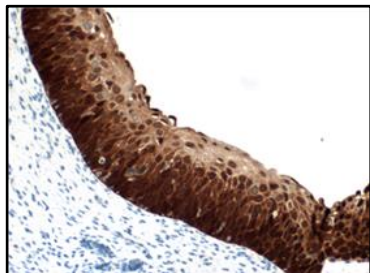


Fig. 1. Colorarea cu CINtec p16 Histology a celulelor epiteliale scuamoase cervicale.

DOMENIU DE UTILIZARE

CINtec p16 Histology este un test imunohistochimic pentru detecția calitativă a proteinei p16^{INK4a} pe secțiuni de țesut fixate în formalină, înglobate în parafină, preparate din biopsii cervicale. Este indicată utilizarea sa împreună cu lame colorate H&E pregătite din aceeași probă de țesut cervical ca ajutor la creșterea acurateții diagnosticului și a acordului între observatori la diagnosticarea neoplaziei intraepiteliale cervicale de grad ridicat.

Acest produs trebuie interpretat de un patolog calificat împreună cu examinarea histologică, informațiile clinice relevante și controalele adecvate.

Acest anticorp este destinat pentru diagnosticarea in vitro (IVD).

REZUMAT ȘI EXPLICAȚIE

CINtec p16 Histology conține o singură componentă: anti-p16^{INK4a} (E6H4), un anticorp primar monoclonal de șoarece.

Fiind un inhibitor de kinază dependent de ciclină, p16^{INK4a} (p16) joacă un rol cheie în progresia ciclului celular și diferențierea celulară.¹⁻⁴ Proteina p16^{INK4a} controlează tranziția la faza G1-S mediata de proteina retinoblastomului (pRB) și declanșează oprirea ciclului celular în cursul procesului de diferențiere celulară.^{1,5} În celulele epiteliale normale diferențiate terminal, p16^{INK4a} este exprimată la niveluri scăzute, de obicei nedetectate de analizele imunohistochimice.^{1,5} Studiile de cercetare au identificat supraexprimarea puternică a proteinei p16^{INK4a} în țesuturile precanceroase și canceroase ca fiind legată strâns de exprimarea oncoproteinei E7 a papilomavirusului uman (HPV).^{1,3,6,7,8}

Detecția IHC a supraexprimării p16 poate ajuta la interpretarea probelor histologice cervicale. Proteina p16 a fost raportată ca fiind supraexprimată în cazul celulelor epiteliale scuamoase neoplazice de col uterin și majoritar absentă în cazul leziunilor epiteliale și non-neoplazice normale.^{1,2,5,6,7} Numeroase studii au investigat corelații dintre supraexprimarea p16 și prezența neoplaziei intraepiteliale cervicale (CIN).^{8,9} Supraexprimarea proteinei p16 a fost observată în cazul tuturor leziunilor CIN3, în vasta majoritate a leziunilor CIN2 și, în mod normal, în 40% până la 60% dintre leziunile cervicale scuamoase clasificate ca CIN1 în secțiunile de țesut colorate cu H&E.⁸⁻¹³

SEMNIFICAȚIE CLINICĂ

Interpretarea probelor de biopsie cervicală în vederea diagnosticării stabilește baza pentru deciziile privind tratarea pacienților. CIN1 este manifestarea histologică a unei infecții cu HPV. În general, se recomandă ca pacienții diagnosticați cu leziuni CIN1 să revină pentru evaluare de monitorizare peste un an.¹⁴ În cazul bolii cervicale, CIN2 este cel mai utilizat prag clinic pentru tratament.¹⁴ Tratamentul excizional sau terapia ablativă se recomandă pentru pacienții diagnosticați cu CIN2 sau CIN3. Riscul tratamentului excizional la pacienta cu potențial fertil include efectele adverse asupra sarcinilor viitoare.^{15,16,17} Prin urmare, diagnosticul precis al CIN și în special al CIN2 și CIN3 este important pentru deciziile de gestionare a pacienților.¹⁸

Interpretarea morfologică a probelor de biopsie cervicală doar cu H&E este supusă variabilității între observatori.¹⁸⁻²⁵ Mai multe studii au evaluat utilizarea complementară a lamelor colorate cu p16 și efectul asupra fiabilității între observatori la interpretarea diagnosticului cu probele histologice cervicale de către patologi. În toate aceste studii,

acordul privind diagnosticul între patologi s-a îmbunătățit semnificativ când lamele colorate cu p16 au fost interpretate împreună cu lamele colorate cu H&E comparativ cu interpretarea individuală a lamelor colorate cu H&E.^{10,11,13,21,22,26,27,28}

În plus, mai multe studii au evaluat efectul asupra acurateții diagnosticului la interpretarea histologiei cervicale când au fost utilizate lame colorate cu p16 împreună cu lame colorate cu H&E. Dijkstra et al. (2010) au demonstrat un acord aproape perfect între diagnosticul determinat de ajutorul lamelor colorate cu p16 interpretate de un singur patolog comparativ cu diagnosticul adjuocat determinat de un panel de patologi exclusiv pe baza lamelor colorate cu H&E.¹⁰ Bergeron et al. au raportat o creștere semnificativă a acurateții diagnosticului la interpretarea care include atât lamele colorate cu p16, cât și lamele colorate cu H&E, comparativ cu interpretarea doar cu lamele colorate cu H&E (p = 0.0004) cu o sensibilitate ≥ CIN2 care crește de la 77% până la 87%.¹¹ În cadrul unui studiu prospectiv, bazat pe populație, în care un centru clinic academic din SUA a analizat peste 1450 de cazuri de biopsie cervicală consecutive, colorarea cu p16 s-a dovedit a fi „un adjuvant de diagnosticare util și de încredere pentru diferențierea biopsiilor cu și fără CIN2+”.¹² Prin urmare, interpretarea complementară a lamelor colorate cu H&E care conțin secțiuni de biopsii cervicale împreună cu lame consecutive din aceeași probă de țesut imunocolorat cu p16 are potențialul de a îmbunătăți semnificativ acordul privind diagnosticul la interpretarea biopsiilor cervicale.

PRINCIPIUL PROCEDURII

CINtec p16 Histology este un anticorp primar monoclonal de șoarece produs pe proteina p16^{INK4a}. CINtec p16 Histology aderă la proteina p16^{INK4a} în secțiunile de țesut fixat în formalină, înglobat în parafină (FFPE) și prezintă un model de colorare nucleară și/sau citoplasmatică. Acest anticorp poate fi văzut cu ajutorul OptiView DAB IHC Detection Kit (nr. cat. 760-700; 06396500001) sau ultraView Universal DAB Detection Kit (nr. cat. 760-500; 05269806001). Pentru mai multe informații, consultați fișa respectivă de descriere a metodei.

MATERIALE FURNIZATE

CINtec p16 Histology (nr. cat. 805-4713 / 06695248001) conține reactiv suficient pentru 50 de teste.

Un dozator de 5 mL de CINtec p16 Histology conține aproximativ 5.0 μg de anticorp monoclonal de șoarece.

CINtec p16 Histology (nr. cat. 825-4713 / 06695256001) conține reactiv suficient pentru 250 de teste.

Un dozator de 25 mL de CINtec p16 Histology conține aproximativ 25.0 μg de anticorp monoclonal de șoarece.

Acest anticorp este diluat în Tris-HCl cu proteină transportatoare și 0.10% ProClin 300 cu rol de conservant.

Concentrația specifică a anticorpului este de aproximativ 1.0 μg/mL. Nu există nicio reactivitate nespecifică la anticorpi observată la acest produs.

CINtec p16 Histology este un anticorp monoclonal de șoarece recombinant, purificat din supernatant de cultură celulară.

Consultați fișa adecvată de descriere a metodei din kitul de detecție VENTANA pentru descrieri detaliate ale: Principiul procedurii, Materiale și metode, Colectarea și pregătirea probelor pentru analiză, Proceduri de control de calitate, Depanare, Interpretarea rezultatelor și Limitări.

MATERIALE NECESARE, DAR CARE NU SUNT FURNIZATE

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

Nu toate produsele menționate în prospect pot fi disponibile în toate zonele geografice. Consultați reprezentantul de asistență local.

Reactivii și materialele de mai jos pot fi necesari pentru colorare, dar nu sunt furnizați:

1. Țesutul de control recomandat
2. Lame de microscop, încărcate pozitiv
3. Negative Control (Monoclonal) (nr. cat. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (nr. cat. 760-700 / 06396500001)
5. ultraView Universal DAB Detection Kit (nr. cat. 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (nr. cat. 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (nr. cat. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr. cat. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (nr. cat. 650-010 / 05264839001)

10. ULTRA LCS (Predilute) (nr. cat. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr. cat. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr. cat. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (nr. cat. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (nr. cat. 760-2037 / 05266769001)
15. Mediu de montare permanentă
16. Lamelă de acoperire
17. Dispozitiv automat de aplicare a lamelei de acoperire
18. Echipament de laborator de uz general
19. Instrument BenchMark IHC/ISH

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

La primire, și atunci când nu este în uz, a se depozita la 2–8 °C. A nu se congela.

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

Fiecare dozator de anticorpi are marcată data expirării. Dacă este stocat în mod adecvat, reactivul este stabil până la data trecută pe etichetă. Nu utilizați reactivul după data expirării.

PREGĂTIREA PROBELOR

Țesuturile FFPE prelucrate de obicei sunt adecvate utilizării cu acest anticorp primar la utilizarea cu kiturile de detecție VENTANA și instrumentele BenchMark IHC/ISH. Fixatorul de țesut recomandat este formalina neutră tamponată 10%.²⁹ Secțiunile trebuie tăiate la aproximativ 4 μm grosime și montate pe lame încărcate pozitiv. Lamele trebuie colorate imediat, deoarece antigenicitatea secțiunilor de țesut tăiate se poate reduce în timp. Solicitați reprezentantului dvs. Roche un exemplar al „Recommended Slide Storage and Handling” pentru informații suplimentare.

Se recomandă testarea controalelor pozitive și negative simultan cu probele necunoscute.

AVERTIZĂRI ȘI MĂSURI DE PRECAUȚIE

1. Pentru diagnosticarea *in vitro* (IVD).
2. Doar pentru uz profesional.
3. A nu se depăși numărul de teste specificat.
4. Soluția ProClin 300 este utilizată pe post de conservant în acest reactiv. Este clasificată ca iritant și poate provoca sensibilizarea prin contactul cu pielea. La utilizare, luați măsuri de precauție rezonabile. Evitați contactul reactivilor cu ochii, pielea și membranele mucoase. Utilizați îmbrăcăminte și mănuși de protecție.
5. Lamele încărcate pozitiv pot fi susceptibile la factori de mediu care duc la colorarea inadecvată. Cereți reprezentantului dvs. Roche mai multe informații privind modul de utilizare a acestor tipuri de lame.
6. Materialele de origine umană sau animală trebuie considerate materiale care prezintă pericol biologic și eliminate cu măsurile de precauție adecvate. În cazul expunerii, trebuie respectate instrucțiunile de sănătate comunicate de autoritățile responsabile.^{30,31}
7. Evitați contactul reactivului cu ochii și membranele mucoase. Dacă reactivii intră în contact cu zonele sensibile, spălați-le cu apă din abundență.
8. Evitați contaminarea microbiană a reactivilor, deoarece aceasta poate duce la obținerea unor rezultate incorecte.
9. Pentru mai multe informații privind utilizarea acestui dispozitiv, consultați ghidul de utilizare a instrumentului BenchMark IHC/ISH și instrucțiunile de utilizare a tuturor componentelor necesare de la navifyportal.roche.com.
10. Consultați autoritățile locale și/sau de stat cu privire la metoda de eliminare recomandată.
11. Etichetarea de securitate a produsului respectă în principal instrucțiunile GHS din UE. Fișa cu date de securitate este disponibilă utilizatorilor profesioniști la cerere.
12. Pentru a raporta suspiciunile privind incidentele grave referitoare la acest dispozitiv, contactați reprezentantul local Roche și autoritatea competentă a Statului Membru sau a Țării în care este stabilit utilizatorul.

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

Tab. 1. Informații privind pericolele.

Pericol	Cod	Declarație
	H317	Poate provoca o reacție alergică a pielii.
	H412	Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.
	P261	Evitați să inspirați ceața sau vaporii.
	P273	Evitați dispersarea în mediu.
	P280	Purtați mănuși de protecție.
	P333 + P313	În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul.
	P362 + P364	Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare.
	P501	Eliminați conținutul/recipientul la o groapă de gunoi autorizată.

Acest produs conține CAS nr. 55965-84-9, masă de reacție ce conține: 5-cloro-2-metil-2H-izotiazol-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1).

PROCEDURA DE COLORARE

Anticorpii primari VENTANA au fost dezvoltati pentru a fi utilizați pe instrumentele BenchMark IHC/ISH împreună cu kiturile de detecție și accesoriile VENTANA. Consultați Tab. 2 și Tab. 3 de mai jos pentru protocoalele de colorare recomandate.

Acest anticorp a fost optimizat pentru timpi de incubare specifici, dar utilizatorul trebuie să valideze rezultatele obținute cu acest reactiv.

Parametrii pentru procedurile automate pot fi afișați, tipăriți și editați conform procedurii din ghidul de utilizare a instrumentului. Consultați fișa adecvată de descriere a metodei aferentă kitului de detecție VENTANA pentru mai multe detalii referitoare la procedurile de colorare din imunohistochimie.

Pentru mai multe detalii referitoare la utilizarea adecvată a acestui dispozitiv, consultați fișa de descriere a metodei pentru dozatorul utilizat în linie, asociat cu P/N 805-4713 sau P/N 825-4713.

Tab. 2. Protocolul de colorare recomandat pentru CIntec p16 Histology cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit pe instrumente BenchMark IHC/ISH.

Tipul de procedură	Metodă		
	GX	XT	ULTRA sau ULTRA PLUS
Deparafinare	Selectat(ă)	Selectat(ă)	Selectat(ă)
Cell Conditioning (Demascarea antigenului)	CC1, Standard	CC1, Standard	ULTRA CC1, 64 minute 95 °C
Anticorp (primar)	24 minute, 37 °C	16 minute, 37 °C	20 minute, 36 °C
ultraBlock*	8 minute	n/a	n/a
Contracolorație	Hematoxylin II, 4 minute		
Post-contracolorare	Bluing, 4 minute		

* Utilizați Antibody Diluent la pasul ultraBlock.

Tab. 3. Protocolul de colorare recomandat pentru CINtec p16 Histology cu OptiView DAB IHC Detection Kit pe instrumente BenchMark IHC/ISH.

Tipul de procedură	Metodă		
	GX	XT	ULTRA sau ULTRA PLUS
Deparafinare	Selectat(ă)	Selectat(ă)	Selectat(ă)
Cell Conditioning (Demascarea antigenului)	CC1, 32 minute	CC1, 48 minute	ULTRA CC1, 48 minute 100 °C
Inhibitor de peroxidază preprimar	Selectat(ă)	Selectat(ă)	Selectat(ă)
Anticorp (primar)	8 minute, 37 °C	8 minute, 37 °C	12 minute, 36 °C
Post-fixator*	8 minute	n/a	n/a
Contracolorație	Hematoxylin II, 4 minute		
Post-contracolorare	Bliuing, 4 minute		

* Utilizarea Antibody Diluent la pasul post-fixator.

Din cauza variațiilor de fixare și prelucrare a țesutului, cât și a condițiilor generale ale instrumentelor de laborator și de mediu, poate fi necesară creșterea sau reducerea incubării anticorpilor primari, condiționării celulei sau pretratării cu protează pe baza probelor individuale, a detecției utilizate și preferințelor cititorului. Pentru mai multe informații privind variabilele de fixare, consultați „Immunohistochemistry Principles and Advances”.³²

CONTROL CU REACTIV NEGATIV

În plus față de colorarea cu CINtec p16 Histology, o a doua lamă trebuie colorată cu reactivul de control negativ adecvat.

CONTROL DE ȚESUT POZITIV

Practica de laborator optimă este aceea de a include o secțiune de control pozitiv pe aceeași lamă cu țesutul de test. Acest lucru ajută la identificarea oricărui eșecuri prin aplicarea reactivului pe lamă. Țesutul cu colorare pozitivă slabă este cel mai bun pentru controlul de calitate. Țesutul de control poate conține elemente de colorare atât pozitive cât și negative și servește în calitate de control pozitiv dar și negativ. Țesutul de control trebuie să fie o probă obținută prin autopsie, biopsie sau intervenție chirurgicală recentă, preparată sau fixată cât mai repede posibil, în mod identic cu secțiunile de testare.

Controalele de țesut pozitiv cunoscut pot fi utilizate doar pentru monitorizarea performanțelor reactivilor și instrumentelor, nu ca mijloc auxiliar de determinare a diagnosticelor specifice ale probelor de testare. Dacă controalele de țesut pozitiv nu demonstrează colorarea pozitivă, rezultatele probei de testare trebuie considerate nevalide.

Exemple de țesuturi de control pozitiv pentru acest anticorp îl reprezintă țesutul pancreatic normal, țesutul amigdalian normal și țesutul de carcinom cervical.

În cazul țesutului amigdalian normal, este prezentă colorarea nucleară și/sau citoplasmatică a celulelor epiteliale scuamoase dispersate în principal în epiteliul criptic și celulele dendritice foliculare dispersate din centrele germinale, iar colorarea este absentă în majoritatea limfocitelor (poate fi observată colorarea limfocitelor rare).

INTERPRETAREA COLORĂRII/REZULTATE PRECONIZATE

Modelul de colorare celulară pentru CINtec p16 Histology este cel nuclear și/sau citoplasmatic.

Supraexpresia biomarkerului p16^{INK4a} în cazul probelor de biopsie cervicală este reprezentată ca o colorare continuă difuză a celulelor straturilor celulare bazale și parabazale ale epiteliului scuamos cervical, cu sau fără colorarea straturilor celulare intermediare sau de la intermediare la superficiale. Acest model de colorare continuu și difuz reprezintă starea CINtec p16 Histology pozitivă. Colorarea focală este reprezentată de colorarea necontinuu a celulelor izolate sau a aglomerărilor de celule mici, în special nu cea a celulelor bazale și parabazale. Colorare focală și lipsa colorației p16 reprezintă starea negativă a CINtec p16 Histology. Criteriile privind modelul de colorare p16 și starea CINtec p16 Histology sunt prezentate în Tab. 4.

Tab. 4. Starea CINtec p16 Histology și modelele de colorare p16.

Starea CINtec p16 Histology	Model de colorare p16	Descrierea colorației
Pozitivă	Difuz	Colorarea continuă a celulelor straturilor celulare bazale și parabazale ale epiteliului scuamos cervical, cu sau fără colorarea straturilor celulare intermediare sau de la intermediare la superficiale
Negativă	Focal	Colorația celulelor izolate sau a aglomerărilor de celule mici; și anume, o colorație fără continuitate, în special nu cea a celulelor bazale și parabazale
	Fără colorație p16	O reacție de colorație negativă în epiteliul scuamos

LIMITĂRI SPECIFICE

CINtec p16 Histology poate demonstra colorarea fibroblastomului sau a epiteliului columnar în cazul țesuturilor cervicale, care nu interferează cu interpretarea.

În general, sistemul de detecție OptiView este mai sensibil decât sistemul de detecție *ultraView*. Utilizatorul trebuie să detecteze rezultatele obținute cu acest reactiv și sistemele de detecție.

Țesutul de la pacient trebuie colorat în interval de 24 săptămâni de la secționarea din blocul de țesut. Performanța colorării cu CINtec p16 Histology pe secțiunile care au fost depozitate la temperatura camerei pentru mai mult de 24 săptămâni nu a fost verificată.

Probele trebuie fixate timp de cel puțin 1 oră în 10% NBF, formalină de zinc ori Z-fix sau cel puțin 3 ore în AFA. Utilizarea altor durate de fixare sau a altor tipuri de fixatori decât cei recomandați poate genera rezultate fals negative. Alcool-formalina și fixatorii PREFER nu sunt recomandați pentru această analiză.

Este posibil să nu fie înregistrate toate testele pe fiecare instrument. Pentru mai multe informații, contactați reprezentantul dvs. local Roche.

CARACTERISTICILE DE PERFORMANȚĂ

PERFORMANȚĂ ANALITICĂ

Au fost desfășurate teste de colorare pentru sensibilitate, specificitate, precizie și acuratețe, rezultatele fiind menționate mai jos.

Sensibilitate și specificitate

Sensibilitatea și specificitatea analitice au fost determinate prin colorarea mai multor cazuri de țesuturi umane normale și neoplazice cu CINtec p16 Histology. Rezultatele sunt prezentate în Tab. 5 și Tab. 6. Multe dintre țesuturile normale au demonstrat colorarea câtorva celule sau a unor tipuri de celule specifice, după cum a fost menționat. Acest lucru este preconizat datorită rolului proteinei p16^{INK4a} în reglarea ciclului celular.

Tab. 5. Sensibilitatea/specificitatea CINtec p16 Histology a fost determinată prin testarea țesuturilor normale FFPE.

Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri	Celule pozitive în țesut normal
Creierul mare	4/4	Celule gliale
Creierul mic	3/3	Celule Purkinje
Glanda suprarenală	3/3	Celule epiteliale adrenocorticale
Ovar	3/3	Celule stromale
Pancreas	3/3	Insulele Langerhans, celule acinare
Ganglion limfatic	3/3	Limfocite, celule dendritice foliculare
Glanda paratiroidă	2/3	Celule principale

Țesut	Nr. cazuri pozitive/total cazuri	Celule pozitive în țesut normal
Glanda pituitară	3/3	Celule epiteliale ale glandei pituitare anterioare
Testicul	3/3	Celule spermatogenice, celule Leydig
Tiroidă	3/3	Celule foliculare
Sân	3/3	Celle mioepiteliale, celule epiteliale luminale, celule stromale
Splină	3/3	Limfocite, celule dendritice foliculare
Amigdală	6/6	Celule epiteliale scuamoase, limfocite, celule dendritice foliculare
Timus	3/3	Celule reticulare epiteliale, limfocite, corpusculi Hassal
Măduvă osoasă	2/3	Celule mioeloidice
Plămân	3/3	Pneumocite, celule epiteliale bronhiale
Cord	0/3	Fără celule pozitive
Esofag	3/3	Celule epiteliale scuamoase
Stomac	3/3	Celule epiteliale, glande fundice
Intestinul subțire	3/3	Celule epiteliale
Intestinul gros	3/3	Celule epiteliale
Apendice	0/3	Fără celule pozitive
Ficat	0/3	Fără celule pozitive
Glanda salivară	3/3	Celule epiteliale ale canalelor striate, celule acinare seroase
Faringele/cavitatea bucală	2/3	Celule epiteliale respiratorii, celule epiteliale ale canalelor striate, celule acinare mucoase, celule acinare seroase
Rinichi	3/3	Celule epiteliale tubulare, celule mesangiale glomerulare
Prostată	3/3	Celule acinare, celule bazale
Vezică	3/3	Celule uroteliale
Endometru	3/3	Celule glandulare endometriale, celule stromale
Col uterin ^a	1/120	Celule epiteliale scuamoase
Mușchi scheletic	0/3	Fără celule pozitive
Piele	0/3	Fără celule pozitive
Nerv	4/4	Celule Schwann
Mezoteliu	0/3	Fără celule pozitive
Țesut moale	3/3	Celule endoteliale, fibroblastoame, celule ductale

^a Țesuturile evaluate includ colul uterin normal și cervicita cronică. Cazurile de col uterin au fost interpretate pe baza algoritmului de stabilire a scorului CINtec Histology, care consideră colorarea celulelor scuamoase normale (colorare focală), a celulelor endocervicale sau stromale ca fiind negativă.

Tab. 6. Sensibilitatea/Specificitatea CINtec p16 Histology a fost determinată prin testarea țesuturilor neoplazice FFPE.

Patologie	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Glioblastom (Creierul mare)	1/1
Meningiom (Creierul mare)	1/1
Ependimom (Creierul mic)	1/1
Oligodendrogliom (Creierul mic)	1/1
Adenocarcinom (Cap și gât)	1/1
Carcinom cu celule scuamoase (Cap și gât)	0/1
Carcinom seros (Ovar)	1/1
Tumora cu celule granulare (Ovar)	1/1
Teratom (Ovar)	1/1
Neoplasm pancreatic neuroendocrin (Pancreas)	1/1
Adenocarcinom ductal (Pancreas)	1/1
Seminom (Testicul)	1/1
Carcinom embrionar (Testicul)	1/1
Carcinom folicular (Tiroidă)	1/1
Carcinom papilar (Tiroidă)	0/1
Carcinom ductal in situ (Sân)	1/1
Carcinom ductal invaziv (Sân)	1/1
Carcinom lobular invaziv (Sân)	1/1
Adenom (Glanda suprarenală)	1/1
Feocromocitom (Glanda suprarenală)	1/1
Limfom difuz cu celule B mari (Splină)	0/1
Adenom pleomorf (Glanda salivară)	1/1
Tumora Warthin (Glanda salivară)	1/1
Carcinom cu celule mici (Plămân)	1/1
Carcinom cu celule scuamoase (Plămân)	0/1
Adenocarcinom (Plămân)	1/1
Carcinom cu celule scuamoase (Esofag)	0/1
Adenocarcinom (Esofag)	1/1
Adenocarcinom (Stomac)	1/1
Tumora stromală gastrointestinală (Stomac)	1/1
Adenocarcinom (Intestin subțire)	0/1
Tumora stromală gastrointestinală (Intestin subțire)	1/1
Adenocarcinom (Intestin gros)	1/1
Carcinom adenoscuamos (Intestin gros)	1/1
Tumora carcinoidă (Apendice)	1/1
Carcinom hepatocelular (Ficat)	1/1
Colangiocarcinom (Ficat)	0/1
Carcinom renocelular (Rinichi)	1/2
Adenom papilar renal (Rinichi)	1/1
Adenocarcinom (Prostată)	2/2

Patologie	Nr. cazuri pozitive/total cazuri
Carcinom cu celule clare (Uter)	1/1
Carcinom endometrioid (Uter)	1/1
Leiomiom (Uter)	0/1
Leiomiiosarcom (Uter)	1/1
Neoplazie intraepitelială cervicală I (CIN I) (Col uterin)	12/37
CIN I-II, grad scăzut vs. grad înalt (Col uterin)	2/8
CIN II (Col uterin)	52/60
CIN II-III, grad înalt (Col uterin)	1/3
CIN III (Col uterin)	65/67
Carcinom cu celule scuamoase (Col uterin)	73/76
Carcinom adenoscuamos (Col uterin)	2/2
Adenocarcinom (Col uterin)	1/1
Carcinom neuroendocrin (Col uterin)	1/1
Rabdomiosarcom alveolar (Mușchi)	0/1
Mixom (Mușchi)	1/1
Carcinom bazocelular (Piele)	1/1
Melanom invaziv (Piele)	1/1
Carcinom cu celule scuamoase (Piele)	0/1
Schwannom (Nervul periferic)	1/1
Neurofibrosarcom (Nerv)	1/1
Limfom anaplastic cu celule mari (Ganglion limfatic)	1/1
Limfom folicular (Ganglion limfatic)	1/1
Limfom Hodgkin (Ganglion limfatic)	1/1
Carcinom cu celule uroteliale (Vezică)	1/1
Carcinom cu celule scuamoase (Vezică)	0/1
Plasmacitom (Extramedular)	1/1
Mezoteliom (Mezoteliu)	1/1
Tumora fibroasă solitară pleurală (Mezoteliu)	1/1
Angiosarcom (Țesut moale)	1/1
Liposarcom (Țesut moale)	1/1

Precizia între instrumente

Au fost efectuate două studii pentru evaluarea preciziei între instrumente. Un studiu a fost efectuat pe un instrument BenchMark XT și un instrument BenchMark ULTRA utilizând *ultraView* Universal DAB Detection Kit, iar al doilea studiu a fost efectuat pe un instrument BenchMark ULTRA cu *OptiView* DAB IHC Detection Kit.

În cadrul primului studiu, secțiunile din două blocuri de țesuturi multiple care au conținut carcinom cu celule scuamoase cervicale, țesut amigdalial și pancreatic, au fost colorate pe trei instrumente BenchMark XT și pe trei instrumente BenchMark ULTRA cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit (5 secțiuni din fiecare bloc de țesuturi multiple pentru fiecare instrument). Intensitățile colorației p16 au fost la interval de 0.5 puncte de punctajul median în 100% dintre toate țesuturile la colorarea pe trei instrumente BenchMark XT. Intensitățile colorației p16 au fost la interval de 0.5 puncte de punctajul median în 100% dintre țesuturile de carcinom cu celule scuamoase cervicale (15/15), 93% dintre țesuturile amigdalene (14/15) și 93% dintre țesuturile pancreatice (14/15) la colorarea pe trei instrumente BenchMark ULTRA. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o colorație de fond acceptabilă.

În cadrul celui de-al doilea studiu, precizia testului CINtec p16 Histology a fost determinată pe trei instrumente BenchMark ULTRA prin colorarea lamelor de replicat pentru 28 de cazuri cervicale (opt cazuri de col uterin normal, șase cazuri de CIN1, șase cazuri de CIN2, patru cazuri de CIN3 și patru cazuri de carcinom cervical) utilizând kitul de detecție *OptiView* DAB IHC. Fiecare caz a fost colorat pe fiecare dintre cele trei instrumente BenchMark ULTRA cu fiecare dintre cele trei loturi de CINtec p16 Histology. Per total, în studiu au fost incluse câte nouă lame colorate cu CINtec p16 Histology din fiecare caz (trei loturi de CINtec p16 Histology, trei instrumente BenchMark ULTRA). Fiecare lamă colorată cu CINtec p16 Histology a fost apoi asociată cu o lamă colorată cu H&E din același caz. Toate lamele au fost randomizate, apoi au fost evaluate de un singur patolog, fără a cunoaște diagnosticul cazului pentru intensitățile colorației p16, starea pozitivă sau negativă a CINtec p16 Histology și istoricul medical. Datele au demonstrat că 97.6% din țesuturi au avut scoruri de intensitate a colorației la interval de 0.5 puncte pe toate instrumentele. În plus, 100% dintre secțiunile colorate cu CINtec p16 Histology pe trei instrumente BenchMark ULTRA au demonstrat aceeași stare a CINtec p16 Histology. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o colorație de fond acceptabilă.

În plus, precizia intermediară între instrumente a fost determinată pe trei instrumente BenchMark ULTRA PLUS prin colorarea lamelor în duplicat de 24 de cazuri de țesut cervical (unsprezece de col uterin normal, unul de CIN1, două de CIN2, șapte de CIN3 și trei de carcinom cu celule scuamoase). Lamele de test au fost randomizate, apoi evaluate de un singur patolog, fără a cunoaște diagnosticul cazului pentru starea pozitivă sau negativă a CINtec p16 Histology, morfologia și colorarea nespecifică (fond). Acordul procentual general a fost 99.3%. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o morfologie acceptată și o colorație de fond de 100%.

Precizie între loturi

Precizia de la un lot la altul a CINtec p16 Histology a fost evaluată prin testarea a trei loturi de CINtec p16 Histology pe un instrument BenchMark ULTRA utilizând *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Au fost colorate secțiuni din fiecare dintre cele 26 de probe de țesut de biopsie cervicală (șase cazuri de col uterin normal, șase cazuri de CIN1, șase cazuri de CIN2, șase cazuri de CIN3 și două cazuri de carcinom cervical) în duplicat, utilizând fiecare lot de CINtec p16 Histology. Fiecare lamă de țesut colorată cu CINtec p16 Histology a fost asociată cu o lamă H&E adiacentă și cu o lamă de control cu reactiv negativ din același caz. Seturile de lame au fost randomizate și evaluate de către un singur patolog, fără a cunoaște diagnosticul cazului și numărul de lot. Starea CINtec p16 Histology (pozitivă = colorare p16 difuză; negativă = colorare focală sau lipsă colorare p16) a fost determinată pe baza lamei cu CINtec p16 Histology. Categoriile CIN (CIN2+ (CIN2, CIN3, adenocarcinomul in situ sau carcinomul invaziv combinate într-o singură categorie)/CIN1- (fără CIN sau CIN1 combinate într-o singură categorie)) au fost determinate pe baza interpretării lamelor cu H&E și CINtec p16 Histology. Rezultatele demonstrează reproductibilitatea CINtec p16 Histology în trei loturi de producție ale anticorpului. Toate cazurile au indicat un acord pozitiv și negativ de 100% pentru starea CINtec p16 Histology și un acord de 98.7% pentru categoria CIN pe trei loturi de producție. Un rezumat al datelor este prezentat în Tab. 7. Colorația de fond a fost acceptabilă în cazul a 100% dintre țesuturile colorate.

Tab. 7. Reproducibilitatea de la un lot la altul a anticorpului primar pentru CINtec p16 Histology pe probele cervicale a fost măsurată în funcție de starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) și categoria CIN (CIN2+/CIN1-).

Reproducibilitatea	Evaluare	Acord procentual pozitiv mediu (n/N)	Acord procentual negativ mediu (n/N)	Acord procentual general (n/N)
De la un lot la altul	Starea CINtec Histology	100.0% (352/352)	100.0% (264/264)	100.0% (308/308)
	Categorie CIN	98.1% (314/320)	98.0% (290/296)	98.1% (302/308)

Repetabilitatea în cadrul aceleiași zile și precizia de la o zi la alta

Per total, au fost efectuate trei studii pentru a evalua repetabilitatea în cadrul aceleiași zile și precizia de la o zi la alta. În primele două studii, patalogul a evaluat țesuturile pe baza intensității colorației p16 (0–4), în timp ce în cel de-al treilea studiu a fost evaluată starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) pentru biopsiile cervicale.

În cadrul primului studiu, secțiunile din două blocuri de țesuturi multiple care au conținut trei țesuturi (carcinom cu celule scuamoase cervicale, țesut amigdalian și pancreatic) au fost colorate pe un instrument BenchMark XT cu *ultraView* Universal DAB Detection Kit. În cel de-al doilea studiu, secțiunile obținute din două blocuri multitisulare care conțin țesut amigdalian, pancreatic și trei cazuri cervicale (carcinom celular scuamos invaziv, CIN1-, CIN2+) au fost colorate pe un instrument BenchMark ULTRA cu *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Repetabilitatea în cadrul aceleiași zile a CINtec p16 Histology a fost testată prin colorarea a 14 secțiuni de replicat din fiecare bloc cu țesuturi multiple cu CINtec p16 Histology. CINtec p16 Histology a promovat criteriile de acceptanță, 100% dintre țesuturi având colorație în intervalul de 0.5 puncte din punctajul intensității mediane a colorației în cazul ambelor studii. Precizia de la o zi la alta a fost testată pe parcursul a 5 zile neconsecutive pe o perioadă minimă de 20 de zile. În ambele studii, CINtec p16 Histology a promovat criteriile de acceptanță cu 100% dintre țesuturi având colorație în intervalul de 0.5 puncte din punctajul intensității mediane a colorației pentru repetabilitatea în cadrul aceleiași zile și precizia de la o zi la alta. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut un fond acceptabil.

Cel de-al treilea studiu a evaluat 24 probe de țesut cervical (trei cazuri de carcinom cu celule scuamoase la nivel cervical, șase cazuri de CIN3, șase cazuri de CIN2, șase cazuri de CIN1, trei cazuri de col uterin normal) în funcție de starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă), pe un instrument BenchMark ULTRA cu *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Testarea a fost efectuată pe parcursul a 5 zile neconsecutive pe o perioadă minimă de 20 de zile. În fiecare zi de testare, câte două lame din fiecare caz au fost colorate cu CINtec p16 Histology (150 lame în total), iar câte o lamă din fiecare caz a fost colorată cu un control cu reactiv negativ (75 lame în total). Pentru analizele privind repetabilitatea în cadrul aceleiași zile, starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) a fost comparată în cadrul aceleiași caz între două replicare evaluabile din aceeași zi. Pentru că, pentru acest studiu, au fost luate în considerare 5 zile, numărul total de comparații pentru fiecare caz pentru repetabilitatea din cadrul aceleiași zile a fost de 5. Numărul total de comparații pentru studiul privind precizia de la o zi la alta a fost de 120 = 24 cazuri x 5 comparații per caz.

Rezultatele au indicat o repetabilitate în cadrul aceleiași zile de 100% și o precizie de la o zi la alta de 100% la evaluarea țesuturilor pe baza stării CINtec p16 Histology. Toate secțiunile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o colorație de fond acceptabilă.

În plus, repetabilitatea în cadrul aceleiași testări a fost determinată prin colorarea a 5 lame din fiecare dintre cele 24 de cazuri de țesut cervical (unsprezece de col uterin normal, unul de CIN1, două de CIN2, șapte de CIN3 și trei de carcinom cu celule scuamoase) pe un instrument BenchMark ULTRA PLUS. Lamele de test au fost randomizate, apoi evaluate de un singur patolog, fără a cunoaște diagnosticul cazului pentru starea pozitivă sau negativă a CINtec p16 Histology, morfologia și colorarea nespecifică (fond). Acordul procentual general a fost 97.5%. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o morfologie acceptată și o colorație de fond de 100%.

În plus, precizia intermediară între zile a fost determinată prin colorarea lamelor în duplicat din cele 24 de cazuri de țesut cervical (unsprezece de col uterin normal, unul de CIN1, două de CIN2, șapte de CIN3 și trei de carcinom cu celule scuamoase) pe un instrument

BenchMark ULTRA PLUS pe parcursul a 5 zile neconsecutive pe o perioadă minimă de 20 de zile. Precizia intermediară între zile a fost 98.8%. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o morfologie acceptată și o colorație de fond de 100%.

Acuratețea între platforme și a kitului de detecție

Acuratețea testului a fost demonstrată pe platformele BenchMark ULTRA, BenchMark XT și BenchMark GX utilizând *OptiView* DAB IHC Detection Kit și *ultraView* Universal DAB Detection Kit. În general, au fost colorate 186 de cazuri cervicale cu CINtec p16 Histology și au fost evaluate pentru starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) și fond (acceptabil/neacceptabil). OPA a fost de 98.3–100% pentru fiecare combinație de platforme asociate dintr-un kit de detecție și fiecare combinație de kituri de detecție asociată dintr-o platformă. Toate cazurile care pot fi evaluate colorate cu CINtec p16 Histology au avut o colorație de fond acceptabilă.

În plus, s-a efectuat un studiu pentru a compara performanța de colorare a CINtec p16 Histology, folosind *OptiView* DAB IHC Detection Kit pe instrumentul BenchMark ULTRA PLUS cu cea de pe instrumentul BenchMark ULTRA. Au fost colorate o sută douăzeci (120) de cazuri de țesut cervical (60 pozitive pentru CINtec p16 Histology și 60 negative pentru CINtec p16 Histology) și lamele colorate au fost evaluate de un patolog care a determinat starea CINtec p16 Histology. Acordul procentual general a fost 99.1%. Toate țesuturile colorate cu CINtec p16 Histology au avut o morfologie acceptată și o colorație de fond de 100%.

Precizia în cazul aceleiași cititor și precizia între cititori

Precizia în cazul aceleiași cititor și de la un cititor la altul a fost evaluată pe 50 de cazuri cervicale (16 cazuri de col uterin normal, 12 cazuri de CIN1, 12 cazuri de CIN2, 6 cazuri de CIN3 și 4 cazuri de carcinom cervical) colorate cu CINtec p16 Histology pe un instrument BenchMark ULTRA cu *OptiView* DAB IHC Detection Kit.

Toate lamele au fost randomizate, apoi evaluate de trei patologi pentru starea pozitivă/negativă a CINtec p16 Histology. Patologii nu au cunoscut diagnosticul cazului. Lamele colorate cu CINtec p16 Histology au fost randomizate din nou pentru o a doua evaluare privind starea CINtec p16 Histology de către fiecare dintre cei trei patologi, pe o perioadă fără tratament de 4 săptămâni. Acordul procentual general pentru precizia în cadrul aceleiași cititor și între cititori pentru starea CINtec p16 Histology a fost de 98.7%, după cum este prezentat în Tab. 8.

În cadrul studiului de precizie în cazul aceleiași cititor și între cititori pentru categoria CIN, fiecare lamă CINtec p16 Histology a fost asociată cu o lamă colorată cu H&E din același caz, iar seturile de asocieri au fost randomizate. Categoria CIN (CIN2+/CIN1-) a fost evaluată de trei patologi pe baza interpretării complementare a lamelor colorate cu H&E și a celor colorate cu CINtec p16 Histology. După o perioadă fără tratament de cel puțin 4 săptămâni, perechile de lame au fost randomizate din nou și a fost efectuată o a doua evaluare a categoriei CIN de fiecare dintre cei trei patologi. Datele prezentate în Tab. 8 demonstrează că acordul procentual total pentru precizia în cazul aceleiași cititor și între cititori pentru categoria CIN a fost de 98.0%, respectiv 90%.

Tab. 8. Precizia în cazul aceleiași cititor și între cititori a testului CINtec p16 Histology pe probele cervicale a fost măsurată în funcție de starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) și categoria CIN (CIN2+/CIN1-).

Precizia cititorului	Evaluare	Acord procentual pozitiv mediu (95% CI)	Acord procentual negativ mediu (95% CI)	Acord procentual general (95% CI)
În cazul aceleiași cititor	Starea CINtec p16 Histology	98.7% (93.9–100.0%)	98.6% (93.0–100.0%)	98.7% (94.0–100.0%)
	Categorie CIN	97.4% (89.1–100.0%)	98.4% (92.6–100.0%)	98.0% (92.0–100.0%)
Între cititori	Starea CINtec p16 Histology	98.7% (93.1–100.0%)	98.6% (92.3–100.0%)	98.7% (93.9–100.0%)
	Categorie CIN	87.0% (71.8–97.6%)	91.9% (83.0–98.5%)	90.0% (80.0–98.0%)

Studiu de reproductibilitatea (studiu de precizie de la un laborator la altul)

Un studiu de reproductibilitate între laboratoare pentru CINtec p16 Histology a fost efectuat pentru a demonstra reproductibilitatea analizei în determinarea stării CINtec p16 Histology și a categoriei CIN, utilizând 27 de cazuri cervicale (10 fără CIN, 5 cu CIN1, 5 cu CIN2, 5 cu CIN3 și 2 cazuri de carcinom cervical) testate pe trei instrumente BenchMark ULTRA, în trei zile neconsecutive, la trei laboratoare externe. Probele au fost randomizate și evaluate de șase patologii în total (doi patologii/centru) atât pentru starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) și pentru categoria CIN (CIN2+/CIN1-) pe baza interpretării complementare a lamelor colorate cu H&E și cu CINtec p16 Histology. Patologii nu au cunoscut diagnosticul cazului. Rezultatele privind starea CINtec p16 Histology și categoria CIN sunt prezentate în Tab. 9, respectiv Tab. 10. În plus, ratele de acceptabilitate a morfologiei și a colorației de fond pentru toți cei șase patologii din toate centrele au fost de 96.3%, respectiv 97.1%. Datele indică un acord excelent în ceea ce privește reproductibilitatea testului în toate centrele, zilele și pentru toți patologii.

Tab. 9. Reproducibilitate între laboratoare: acord pentru starea CINtec p16 Histology (pozitivă/negativă) a probelor cervicale.

Rate de acord pentru Reproducibilitatea între laboratoare (Starea CINtec p16 Histology)	Acord procentual pozitiv mediu	Acord procentual negativ mediu	Acord procentual general
Între centre (3 centre)	96.2% (91.2–99.3%)	93.9% (86.3–99.0%)	95.3% (90.6–99.2%)
Între zile (pe parcursul a 3 zile neconsecutive)	98.2% (95.9–99.7%)	97.1% (93.3–99.5%)	97.8% (95.5–99.5%)
Între cititori (2 patologii/centru)	95.5% (87.8–100.0%)	92.9% (82.6–100.0%)	94.4% (87.1–100.0%)

Tab. 10. Reproducibilitate între laboratoare: acord pentru categoria CIN(CIN2+/CIN1-) a probelor cervicale, pe baza interpretării complementare a lamelor colorate cu H&E și a celor colorate cu CINtec p16 Histology.

Rate de acord pentru Reproducibilitatea între laboratoare (Categorie CIN)	Acord procentual pozitiv mediu	Acord procentual negativ mediu	Acord procentual general
Între centre (3 centre)	94.4% (86.8–98.8%)	94.1% (86.7–98.6%)	94.3% (88.5–98.6%)
Între zile (pe parcursul a 3 zile neconsecutive)	96.9% (93.1–99.2%)	96.6% (93.0–99.1%)	96.8% (94.0–99.1%)
Între cititori (2 patologii/centru)	95.0% (87.4–98.9%)	94.8% (88.6–98.9%)	94.9% (89.3–98.7%)

PERFORMANȚĂ CLINICĂ

Acord privind diagnosticul

Studiul CERVical Tissue Adjunctive aNalysis (CERTAIN) a fost efectuat pentru a demonstra că citirea complementară a CINtec p16 Histology are ca rezultat îmbunătățirea concordanței privind diagnosticul de neoplazie intraepitelială cervicală (CIN), a nivelurilor de acord dintre citirile Community Pathologists (CP) și Expert Pathologists (XP) privind țesutul prelevat prin biopsie cervicală prin trepanație.

Studiul clinic CERTAIN a fost efectuat pe 1100 de probe de biopsie cervicală prin trepanație FFPE recoltate retrospectiv, care reprezintă o populație cu trimitere către colposcopie. Un diagnostic de referință obținut de XP a fost determinat pentru fiecare caz al studiului, utilizând atât doar lame colorate cu H&E, cât și lame colorate cu H&E împreună cu lame colorate cu CINtec p16 Histology. Doi patologii experți și-au determinat diagnosticul independent (fără CIN; CIN1; CIN2; CIN3; adenocarcinom in situ sau carcinom invaziv) pe baza lamelor colorate cu H&E pentru fiecare dintre cele 1100 de

cazuri. Patologii au primit și următoarele informații clinice: vârsta pacientei, rezultatul examenului citologic Babeș-Papanicolaou și rezultatele testului HPV (dacă au fost disponibile). Cazurile neconcordanțe au fost evaluate de un al treilea XP. Cazurile pentru care nu s-a obținut un diagnostic cu majoritate de doi din trei au fost revizuite în timpul unei ședințe de reevaluare pentru adjuccare, care a inclus toți cei trei XP. Rezultatele pentru care s-a obținut o majoritate (sau un consens) au stabilit diagnosticul de referință obținut de experți pentru fiecare caz evaluat în studiu (denumit XP1 sau diagnostic de referință cu H&E). După o perioadă minimă de patru săptămâni fără tratament, aceiași XP au evaluat atât lame colorate cu H&E, cât și lame colorate cu CINtec p16 Histology pentru a stabili diagnosticul: fără CIN; histologie LSIL/CIN1; histologie HSIL/CIN2; histologie HSIL/CIN3; adenocarcinom in situ sau carcinom invaziv; (denumit XP2 sau diagnostic de referință cu H&E + CINtec p16 Histology). Procesul de determinare a diagnosticelor majoritare a fost același ca în cazul determinării diagnosticului de referință cu lamele colorate doar cu H&E. La studiu au participat șaptezeci (70) de CP autorizați de consiliu, de pe întreg teritoriul Statelor Unite. În prima rundă (Runda 1, CP1), cele 1100 de cazuri colorate cu H&E au fost împărțite în patru seturi de citire a câte 275 de cazuri, cu distribuții comparabile ale categoriilor de diagnostic individual per diagnostic de referință. Cei 70 CP au fost împărțiți în patru grupe formate din câte 17 sau 18 patologii. Pentru fiecare caz din setul care le-a fost alocat pentru citire, patologii au primit următoarele informații clinice: vârsta pacientei, rezultatul examenului citologic Babeș-Papanicolaou și rezultatele testului HPV (dacă au fost disponibile). CP și-au prezentat în mod independent diagnosticul pe baza lamelor colorate cu H&E pentru fiecare dintre cazurile care le-au fost alocate: cazuri fără CIN; cu CIN1; cu CIN2; CIN3; adenocarcinom in situ sau carcinom invaziv. Fiecare caz al studiului a fost citit individual de 17 sau 18 patologii generali.

În cea de-a doua rundă (Runda 2, CP2), CP au citit lamele colorate cu H&E împreună cu lamele colorate cu CINtec p16 Histology corespunzătoare cu care au fost asociate, pentru același set de cazuri din setul care le-a fost alocat pentru citire. După o perioadă fără tratament de cel puțin 4 săptămâni între Runda 1 și Runda 2, fiecare patolog și-a prezentat în mod independent diagnosticul: fără CIN; histologie LSIL/CIN1; histologie HSIL/CIN2; histologie HSIL/CIN3; adenocarcinom in situ sau carcinom invaziv. Patologii generali au observat starea CINtec p16 Histology (CINtec p16 Histology pozitivă = colorare p16 difuză; CINtec p16 Histology negativă = colorare focală sau lipsă colorare p16), împreună cu diagnosticul histologic utilizând atât lama colorată cu H&E și lama colorată cu CINtec p16 Histology. Obiectivul primar al acestui studiu a fost de a demonstra îmbunătățirea acordului privind diagnosticul fără a compromite acordul procentual pozitiv, respectiv probabilitatea unui rezultat pozitiv al testului în acord cu un diagnostic $\geq$ CIN2 (CIN2, CIN3, adenocarcinomul in situ sau carcinomul invaziv combinate într-o singură categorie) sau $\leq$ CIN1 (fără CIN sau CIN1 combinate într-o singură categorie) pe baza lamelor colorate cu H&E (Runda 1) comparativ cu interpretarea lamelor colorate cu H&E împreună cu lamele colorate cu CINtec p16 Histology (Runda 2).

Îmbunătățirea acurateței diagnosticului obținut de patologii experți

Îmbunătățirea acurateței diagnosticului obținut de patologii experți a fost determinată prin compararea diagnosticului de referință obținut de patologii experți cu H&E (XP1) cu diagnosticul de referință obținut de patologii experți cu H&E și CINtec p16 Histology (XP2). Analiza a fost efectuată pe baza interpretării a 1100 de biopsii cervicale. Îmbunătățirea acurateței diagnosticului prin compararea diagnosticului de referință obținut de patologii experți cu H&E cu diagnosticul de referință obținut de patologii experți cu H&E și CINtec p16 Histology este prezentată în Tab. 11. La utilizarea H&E și CINtec p16 Histology la interpretarea diagnosticului biopsiilor cervicale, XP au identificat cu 23.7% mai multe cazuri $\geq$ CIN2 comparativ cu interpretarea diagnosticului utilizând doar H&E.

Tab. 11. Acordul între diagnosticul de referință obținut cu H&E și H&E și diagnosticul de referință obținut cu CINtec p16 Histology pentru toate cazurile.

		Diagnostic de referință obținut cu H&E					Total
		Fără CIN	CIN1	CIN2	CIN3	ACIS* sau Cancer	
Diagnostic de referință pentru H&E +	Fără CIN	693	13	4	0	0	710
	Histologie LSIL	46	120	4	1	0	171
	Histologie HSIL	30	31	83	69	1	214

CINtec p16 Histology	ACIS* sau cancer	0	0	0	0	5	5
Total		769	164	91	70	6	1100

* ACIS: adenocarcinom in situ

Interpretarea de către patologi generali utilizând H&E comparativ cu H&E și CINtec p16 Histology comparativ cu un diagnostic de referință obținut de experți cu H&E

Acordul privind diagnosticul în rândul patologiilor generali a fost determinat prin compararea rezultatelor diagnosticilor din runda 1 obținute de patologii generali cu H&E (CP1) cu cele ale diagnosticului de referință obținut de patologii experți cu H&E (XP1) și compararea rezultatelor diagnosticilor din runda 2 obținute de patologii generali cu H&E + CINtec p16 Histology (CP2) cu cele ale diagnosticului de referință obținut de patologii experți cu H&E (XP1). S-a calculat media ratelor de acorduri și a intervalelor de încredere (CI) între cazuri și cititori și este prezentată în Tab. 12. A fost observată o creștere semnificativă din punct de vedere statistic a PPA, care reprezintă măsura pentru detecția leziunilor $\geq$ CIN2 (+6.8% cu CI de 95%: de la 4.7% până la 9.0%). În plus, acordul procentual negativ (NPA) pentru detecția leziunilor $\leq$ CIN1 a crescut cu 1.3% cu CI de 95%: de la 0.5% până la 2.3%.

Tab. 12. Ratele de acord pozitiv și negativ ale citirilor de către patologi generali pe lame colorate cu H&E comparativ cu lame colorate cu H&E și lame colorate cu CINtec p16 Histology comparativ cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E (XP1).

Punct final	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Diferență	Valoare p
PPA	83.5%	90.3%	6.8%	< .0001
% (95% CI)	(79.9, 86.8)	(87.5, 92.7)	(4.7, 9.0)	
NPA	90.4%	91.8%	1.3%	0.0032
% (95% CI)	(89.4, 91.4)	(90.6, 92.9)	(0.5, 2.3)	

Notă: Notă: Diferența nu este egală cu 1.4% din cauza erorii de rotunjire: H&E = 90.44%, H&E + CINtec Histology = 91.76%, Diferență = 1.32%.

O diagramă de sinteză pentru acuratețea diagnosticului obținut de cititorii patologi generali individuali pentru diagnosticarea $\geq$ CIN2 versus $\leq$ CIN1 cu utilizarea doar a lamelor colorate H&E versus cu utilizarea lamelor colorate cu H&E împreună cu lamele colorate cu CINtec p16 Histology comparativ cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E este ilustrată în Fig. 2. Sunt prezentate PPA și NPA (acordul procentual negativ, respectiv acordul unui rezultat negativ al testului cu $\leq$ CIN1 de către XP1) ale interpretării fiecărui patolog pentru Runda 1 (doar lamele colorate cu H&E – cercurile albastre) comparativ cu Runda 2 (lame colorate cu H&E împreună cu lame colorate cu CINtec p16 Histology – triunghiuri roșii). Elipsele de predicție indică intervalul de performanță PPA și NPA preconizat pentru majoritatea patologiilor: 80% trebuie să se încadreze în elipse, iar 20% trebuie să fie în afara elipselor. Aceste date demonstrează faptul că interpretarea biopsiilor cervicale utilizând lame colorate cu H&E împreună cu lame colorate cu CINtec p16 Histology îmbunătățește acordul privind diagnosticul și reduce variabilitatea între cititori.

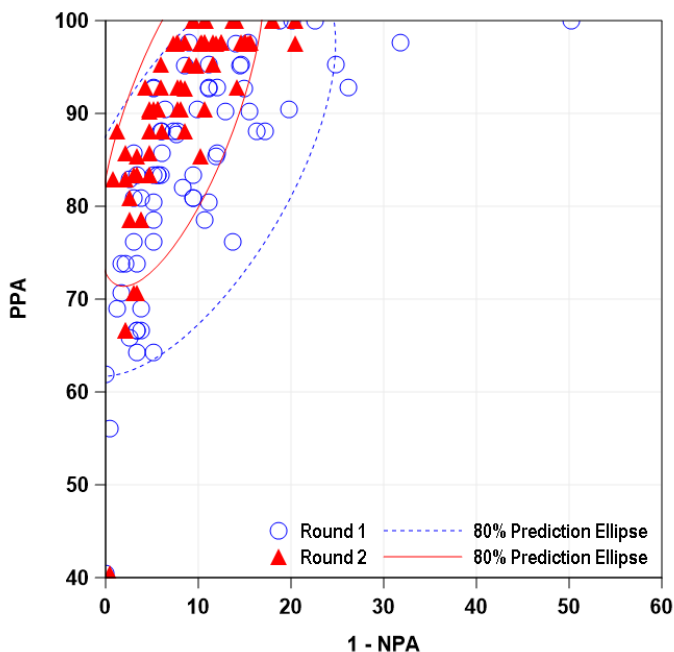


Fig. 2. Diagrama de sinteză pentru acordul privind diagnosticul (PPA comparativ cu 1-NPA) obținut de patologii generali pentru diagnosticarea $\geq$ CIN2 comparativ cu $\leq$ CIN1 utilizând doar H&E (Runda 1) și H&E + CINtec p16 Histology (Runda 2) comparativ cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E (XP1) (elipse de predicție de 80% generate cu presupunerea normalității bivariate).

Interpretarea de către patologi generali utilizând H&E comparativ cu H&E și CINtec p16 Histology comparativ cu un diagnostic de referință obținut de experți cu H&E + CINtec p16 Histology

Apoi, rezultatele citirilor realizate de patologi generali utilizând ambele metode (H&E + CINtec p16 Histology comparativ cu doar H&E) au fost comparate cu diagnosticul de referință (XP2) determinat de ginecopatologii experți utilizând lame colorate cu H&E și lame colorate cu CINtec p16 Histology. Patologii experți nu au cunoscut rezultatele primei runde de citire individuală și diagnosticul de referință obținut cu H&E de consens. Procesul de determinare a diagnosticilor consensuale a fost același ca în cazul determinării diagnosticului de referință cu H&E descrise mai sus.

Rezultatele citirilor realizate de patologi generali utilizând doar lame colorate cu H&E versus lame colorate cu H&E și lame colorate cu CINtec p16 Histology au fost analizate și comparate cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E și CINtec p16 Histology (Tab. 13). Aceste date demonstrează o creștere semnificativă din punct de vedere statistic a PPA (+11.5% cu CI de 95%: de la 9.3% până la 13.5%) și NPA (+3.0% cu CI de 95%: de la 2.2% până la 3.7%).

Tab. 13. Ratele de acord pozitiv (PPA) și negativ (NPA) ale citirilor de către patologi generali pe lame colorate cu H&E comparativ cu lame colorate cu H&E și lame colorate cu CINtec p16 Histology comparativ cu diagnosticul de referință obținut cu CINtec p16 Histology (XP2).

Punct final	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Diferență	Valoare p
PPA	73.3%	84.8%	11.5%	< .0001
% (95% CI)	(69.6, 76.9)	(82.1, 87.1)	(9.3, 13.5)	
NPA	92.2%	95.2%	3.0%	< .0001
% (95% CI)	(91.3, 93.1)	(94.4, 96.0)	(2.2, 3.7)	

O diagramă de sinteză pentru acuratețea diagnosticului determinat de cititorii patologi generali individuali pentru diagnosticarea $\geq$ CIN2 versus $\leq$ CIN1 utilizând doar lame

colorate H&E versus lame colorate cu H&E și lame colorate cu CINtec p16 Histology comparativ cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E + CINtec p16 Histology este ilustrată în Fig. 3. Sunt prezentate PPA și NPA ale interpretării fiecărui patolog pentru Runda 1 (doar lamele colorate cu H&E – cercurile albastre) comparativ cu Runda 2 (lame colorate cu H&E și CINtec p16 Histology – triunghiuri roșii). Elipsele de predicție indică intervalul de performanță PPA și NPA preconizat pentru majoritatea patologiilor: 80% trebuie să se încadreze în elipse, iar 20% trebuie să fie în afara elipselor. Aceste date demonstrează faptul că interpretarea biopsiilor cervicale utilizând lame colorate cu H&E împreună cu lame colorate cu CINtec p16 Histology îmbunătățește concordanța privind diagnosticul și reduce variabilitatea între cititori.

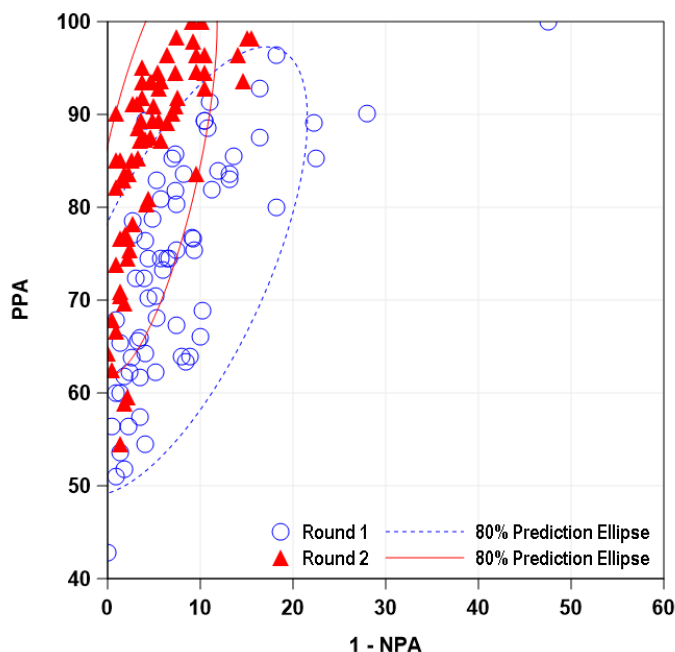


Fig. 3. Diagrama de sinteză pentru acordul privind diagnosticul (PPA comparativ cu 1-NPA) obținut de patologii generali pentru diagnosticarea $\geq$ CIN2 comparativ cu $\leq$ CIN1 utilizând doar H&E (Runda 1) și H&E împreună cu CINtec p16 Histology (Runda 2) comparativ cu diagnosticul de referință obținut de experți cu H&E și CINtec p16 Histology (XP2) (elipse de predicție de 80% generate cu presupunerea normalității bivariate).

Performanța colorării cu CINtec p16 Histology

Obiectivul secundar al acestui studiu a evaluat performanța colorării analizei CINtec p16 Histology, determinată de patologii generali în timpul evaluării lamelor de studiu. În timpul studiului au fost prezentate 19250 de interpretări ale stării CINtec p16 Histology de către 70 de patologii generali. Criteriile de performanță evaluate privind colorația au fost: acceptabilitatea colorației generale, acceptabilitatea colorației de fond și acceptabilitatea morfologiei. Rezultatele demonstrează rate de acceptabilitate $> 99\%$ pentru toate criteriile de colorare (Tab. 14).

Tab. 14. Performanța colorării cu CINtec p16 Histology.

Punct final	Număr de interpretări n/N	Rată
Acceptabilitate colorație	19074/19250	99.09%
Acceptabilitate morfologie	19249/19250	99.99%
Acceptabilitatea colorației de fond	19249/19250	99.99%

Concluzii

Utilizarea lamelor colorate cu CINtec p16 Histology ca adjuvant pentru interpretarea lamelor colorate cu H&E îmbunătățește acordul privind diagnosticul în detectarea

leziunilor CIN ($\geq$ CIN2) de grad înalt pe biopsiile cervicale prin trepanație. Acest acord îmbunătățit este determinat atât de creșterile PPA (acordul unui rezultat pozitiv al testului cu diagnosticul $\geq$ CIN2), cât și de cele ale NPA (acordul unui rezultat negativ al testului cu CIN1 sau un diagnostic fără CIN). În plus, este îmbunătățită atât consecvența diagnosticelor între patologii generali, cât și cea între aceștia cu un panel de experți.

REFERINȚE

- 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.
- Tsoimpou 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.
- Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: metaanalysis. *BMJ.* 2008;337:a1284.
- 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.
- Sadler L, Saftlas A, Wang W, et al. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA.* 2004;291:2100-2106.
- Park KJ, Soslow RA. Current concepts in cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(5):729-738.
- 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.
- 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.
- 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. Horn LC, Reichert A, Oster A, Amdal 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.

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

Rezumatul securității și performanței se regăsește aici:

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

Simboluri

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

GTIN Numărul global al articolului comercial

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

ISTORICUL REVIZIILOR

Rev.	Actualizări
H	Au fost efectuate actualizări ale secțiunii Avertizări și măsuri de precauție, a fost adăugată declarația privind Rx only și au fost actualizate în șablonul actual.

PROPRIETATE INTELECTUALĂ

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC, OPTIVIEW și ULTRAVIEW sunt mărci comerciale ale Roche. Toate celelalte mărci comerciale reprezintă proprietatea deținătorilor respectivi.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

INFORMAȚII DE CONTACT



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

