

CINtec® p16 Histology

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

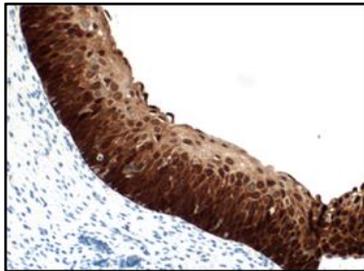


Abb. 1. Färbung von Plattenepithelzellen im Gebärmutterhals mit CINtec p16 Histology.

VERWENDUNGSZWECK

CINtec p16 Histology ist ein immunhistochemischer Assay zum qualitativen Nachweis des p16^{INK4a}-Proteins in Schnitten von formalinfixiertem, paraffineingebettetem Gewebe aus Gebärmutterhalsbiopsien. Es ist zur Verwendung in Verbindung mit H&E-gefärbten Objektträgern aus derselben zervikalen Gewebeprobe als Hilfsmittel zur Erhöhung der diagnostischen Genauigkeit und der Übereinstimmung zwischen den Beobachtern bei der Diagnose von hochgradiger intraepithelialer Neoplasie

der Zervix indiziert.

Dieses Produkt muss von einem qualifizierten Pathologen in Verbindung mit histologischen Untersuchungen, klinisch relevanten Informationen und geeigneten Kontrollen interpretiert werden.

Dieser Antikörper ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD) bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

CINtec p16 Histology besteht aus einem einzelnen Bestandteil: anti-p16^{INK4a} (E6H4), einem monoklonalen primären Maus-Antikörper.

Als Cyclin-abhängiger Kinase-Inhibitor spielt p16^{INK4a} (p16) eine Schlüsselrolle beim Ablauf des Zellzyklus und bei der Zelldifferenzierung.¹⁻⁴ Das p16^{INK4a}-Protein steuert den durch das Retinoblastom-Protein (pRB) vermittelten Übergang von der G1- zur S-Phase und löst im Verlauf des zellulären Differenzierungsprozesses den Stillstand des Zellzyklus aus.^{1,5} In normalen ausdifferenzierten Zellen wird p16^{INK4a} in geringen Mengen exprimiert, die immunhistochemisch in der Regel nicht nachweisbar sind.^{1,5} In Forschungsstudien wurde ein enger Zusammenhang zwischen einer starken Überexpression von p16^{INK4a} in präkanzerösem und kanzerösem Gewebe und der Expression des Onkoproteins E7 des humanen Papillomavirus (HPV) festgestellt.^{1,3,6,7,8}

Der IHC-Nachweis einer Überexpression von p16 kann bei der Interpretation von histologischen Proben des Gebärmutterhalses hilfreich sein. Es wurde berichtet, dass das p16-Protein in neoplastischen Plattenepithelzellen des Gebärmutterhalses überexprimiert, aber im normalen Epithel und in nicht neoplastischen Läsionen meist nicht nachweisbar ist.^{1,2,5,6,7} Die Korrelation zwischen der Überexpression von p16 und dem Vorhandensein einer intraepithelialen Neoplasie der Zervix (CIN) wurde in zahlreichen Studien untersucht.^{8,9} Eine Überexpression von p16 wurde in praktisch allen CIN3-Läsionen, den meisten CIN2-Läsionen und typischerweise bei 40 % bis 60 % der als CIN1 klassifizierten zervikalen Plattenepithelläsionen in H&E-gefärbten Gewebeschnitten festgestellt.⁸⁻¹³

KLINISCHE BEDEUTUNG

Die diagnostische Interpretation von Gebärmutterhalsbiopsien bildet die Grundlage für Entscheidungen bezüglich der Behandlung der Patientin. CIN1 ist die histologische Manifestation einer HPV-Infektion. Generell wird empfohlen, bei Patientinnen, bei denen CIN1-Läsionen diagnostiziert wurden, innerhalb eines Jahres eine Nachuntersuchung durchzuführen.¹⁴ Bei einer zervikalen Erkrankung stellt die Einstufung CIN2 die klinische Schwelle für eine Behandlung dar.¹⁴ Bei Patientinnen mit diagnostizierten CIN2- oder CIN3-Läsionen wird eine exzisionale oder ablativ Therapie empfohlen. Das Risiko einer

exzisionalen Behandlung für Patientinnen im gebärfähigen Alter umfasst auch negative Auswirkungen auf zukünftige Schwangerschaften.^{15,16,17} Daher ist die genaue Diagnose von CIN und insbesondere von CIN2 und CIN3 wichtig für die Entscheidung über die Behandlung der Patientin.¹⁸

Die morphologische Interpretation von Biopsieproben des Gebärmutterhalses nur mit H&E unterliegt einer Variabilität zwischen den Beobachtern.¹⁸⁻²⁵ Mehrere Studien haben die zusätzliche Verwendung von p16-gefärbten Objektträgern und die Auswirkung auf die Zuverlässigkeit zwischen Beobachtern bei der diagnostischen Interpretation von histologischen Proben des Gebärmutterhalses durch Pathologen untersucht. In all diesen Studien verbesserte sich die diagnostische Übereinstimmung zwischen Pathologen signifikant, wenn p16-gefärbte Objektträger mit H&E-gefärbten Objektträgern interpretiert wurden, im Vergleich zur Interpretation der H&E-gefärbten Objektträger allein.^{10,11,13,21,22,26,27,28}

Außerdem wurde in mehreren Studien untersucht, wie sich die Verwendung von p16-gefärbten Objektträgern zusammen mit H&E-gefärbten Objektträgern auf die diagnostische Genauigkeit der zervikalen Histologie auswirkt. Dijkstra und Kollegen (2010) zeigten eine nahezu perfekte Übereinstimmung zwischen Diagnosen, die mithilfe von p16-gefärbten Objektträgern mit Auswertung durch einen einzigen Pathologen gestellt wurden, und den adjudizierten Diagnosen eines Fachgremiums aus Pathologen nur auf der Grundlage von H&E-Färbungen.¹⁰ Bergeron und Kollegen berichteten über eine signifikante Erhöhung der diagnostischen Genauigkeit, wenn für die Auswertung nicht nur H&E-gefärbte, sondern auch p16-gefärbte Schnitte herangezogen wurden ($p = 0.0004$), wobei die Sensitivität für \geq CIN2 von 77 % auf 87 % anstieg.¹¹ In einer kürzlich durchgeführten prospektiven, populationsbasierten Studie, in der in einem akademischen klinischen Zentrum in den USA mehr als 1450 aufeinanderfolgende Fälle von Gebärmutterhalsbiopsien analysiert wurden, erwies sich die ergänzende Färbung auf p16 als „nützliches und zuverlässiges diagnostisches Hilfsmittel zur Unterscheidung von Biopsien mit und ohne CIN2+“.¹² Daher könnte sich durch die Auswertung von Objektträgern mit Schnitten einer H&E-gefärbten Gebärmutterhalsbiopsie zusammen mit konsekutiven Schnitten derselben Gewebeprobe mit Immunfärbung auf p16 die diagnostische Übereinstimmung bei der Interpretation von Gebärmutterhalsbiopsien deutlich verbessern lassen.

VERFAHRENSPRINZIP

CINtec p16 Histology ist ein monoklonaler primärer Maus-Antikörper, der gegen das p16^{INK4a}-Protein hergestellt wird. CINtec p16 Histology bindet an das p16^{INK4a}-Protein in Schnitten von formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebe und zeigt ein nukleäres und/oder zytoplasmatisches Färbemuster. Die Sichtbarmachung dieses Antikörpers erfolgt mit dem OptiView DAB IHC Detection Kit (Art.-Nr. 760-700 / 06396500001) oder dem ultraView Universal DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-500 / 05269806001). Weitere Erläuterungen sind in dem jeweiligen Methodenblatt zu finden.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

CINtec p16 Histology (Art.-Nr 805-4713 / 06695248001) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 50 Tests.

Ein 5-mL-Spender mit CINtec p16 Histology enthält etwa 5.0 µg eines monoklonalen Maus-Antikörpers.

CINtec p16 Histology (Art.-Nr 825-4713 / 06695256001) enthält ausreichendes Reagenzmaterial für 250 Tests.

Ein 25-mL-Spender mit CINtec p16 Histology enthält etwa 25.0 µg eines monoklonalen Maus-Antikörpers.

Dieser Antikörper ist in Tris-HCl mit Trägerprotein und 0.10 % ProClin 300, einem Konservierungsmittel, verdünnt.

Die spezifische Antikörperkonzentration beträgt etwa 1.0 µg/mL. Bei diesem Produkt wurde keine bekannte unspezifische Antikörperreaktivität festgestellt.

CINtec p16 Histology ist ein rekombinanter monoklonaler Maus-Antikörper, der aus Zellkulturüberstand gereinigt wird.

Ausführliche Beschreibungen der folgenden Themen sind dem Methodenblatt des entsprechenden Nachweiskits von VENTANA zu entnehmen: Verfahrensprinzip, Materialien und Methoden, Probensammlung und -vorbereitung zur Analyse, Qualitätskontrollverfahren, Fehlerbehebung, Interpretation der Ergebnisse und Einschränkungen.

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE, ABER ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Färbereagenzien wie die VENTANA Nachweiskits und Hilfskomponenten, einschließlich der Objektträger mit negativen und positiven Gewebekontrollen, werden nicht mitgeliefert.

Möglicherweise sind nicht alle in der Packungsbeilage aufgeführten Produkte in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an den zuständigen Kundendienst.

Die folgenden möglicherweise für die Färbung benötigten Reagenzien und Materialien sind nicht im Lieferumfang enthalten:

1. Empfohlenes Kontrollgewebe
2. Objektträger, positiv geladen
3. Negative Control (Monoclonal) (Art.-Nr. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (Art.-Nr. 760-700 / 06396500001)
5. *ultra*View Universal DAB Detection Kit (Art.-Nr. 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (Art.-Nr. 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (Art.-Nr. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (Art.-Nr. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (Art.-Nr. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (Art.-Nr. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (Art.-Nr. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (Art.-Nr. 760-2037 / 05266769001)
15. Dauerhaftes Eindeckmedium
16. Deckglas
17. Eindeckautomat
18. Allgemeine Laborgeräte
19. BenchMark IHC/ISH Gerät

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bei Annahme, und wenn nicht verwendet, bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu gewährleisten, muss die Spender-Verschlusskappe nach jedem Gebrauch wieder aufgesetzt und der Spender sofort in aufrechter Position in den Kühlschrank gestellt werden.

Jeder Antikörperspender ist mit einem Verfallsdatum versehen. Bei korrekter Lagerung ist das Reagenz bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Das Reagenz darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.

PROBENVORBEREITUNG

Für diesen primären Antikörper eignet sich routinemäßig präpariertes FFPE-Gewebe, wenn es mit einem VENTANA Nachweiskit und einem BenchMark IHC/ISH Gerät verwendet wird. Als Gewebefixierungsmittel wird 10%iges neutral gepuffertes Formalin empfohlen.²⁹ Es sollten etwa 4 µm dicke Gewebeschnitte erstellt und auf positiv geladene Objektträger aufgebracht werden. Die Objektträger sind möglichst sofort zu färben, da die Antigenität der Gewebeschnitte mit der Zeit nachlassen kann. Bitten Sie Ihren Roche Vertreter um ein Exemplar des Informationsblattes „Recommended Slide Storage and Handling“, das weiterführende Informationen enthält.

Es wird empfohlen, unbekannte Proben gleichzeitig mit positiven und negativen Kontrollen zu testen.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik (IVD).
2. Nur zur professionellen Verwendung.
3. Nur für die angegebene Testanzahl verwenden.
4. ProClin 300 Lösung wird als Konservierungsmittel in diesem Reagenz verwendet. Es ist als Reizstoff eingestuft und kann eine Sensibilisierung durch Hautkontakt hervorrufen. Beim Umgang mit diesem Mittel angemessene Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Kontakt mit Augen, Haut und Schleimhäuten vermeiden. Schutzhandschuhe und entsprechende Schutzkleidung tragen.
5. Positiv geladene Objektträger können gegenüber umgebungsbedingten Belastungen anfällig sein, die zu einer nicht adäquaten Färbung führen. Mehr Informationen über die Verwendung dieser Arten von Objektträgern erhalten Sie von Ihrem Roche Servicetechniker.

6. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biogefährliche Stoffe behandelt und mit den erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Im Falle einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu beachten.^{30,31}
7. Kontakt der Reagenzien mit Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser spülen.
8. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu fehlerhaften Versuchsergebnissen führen kann.
9. Weiterführende Informationen zur Verwendung dieses Produkts sind dem Benutzerhandbuch des BenchMark IHC/ISH Geräts und den Gebrauchsanweisungen der benötigten Komponenten auf navifyportal.roche.com zu entnehmen.
10. Anweisungen zur vorschriftsmäßigen Entsorgung sind bei den zuständigen kommunalen und/oder staatlichen Behörden erhältlich.
11. Die Kennzeichnung der Produktsicherheit erfolgt in erster Linie nach der EU-GHS-Verordnung. Sicherheitsdatenblätter sind für professionelle Benutzer auf Anfrage erhältlich.
12. Bei Verdacht auf ein schwerwiegendes Ereignis im Zusammenhang mit diesem Produkt wenden Sie sich an den Roche-Vertreter vor Ort und melden das Ereignis bei der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaats bzw. des Landes, in dem sich der Benutzer befindet.

Dieses Produkt enthält Bestandteile, die nach Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 wie folgt eingestuft sind:

Tabelle 1. Gefahrenhinweis.

Gefahr	Code	Hinweis
	H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
	H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
	P261	Nebel oder Dämpfe nicht einatmen.
	P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
	P280	Schutzhandschuhe tragen.
	P333 + P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
	P362 + P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
	P501	Inhalt/Behälter einer zugelassenen Müllentsorgungsanlage zuführen.

Dieses Produkt enthält CAS-Nr. 55965-84-9, eine Reaktionsmasse aus: 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

FÄRBEVERFAHREN

VENTANA primäre Antikörper wurden zur Verwendung auf BenchMark IHC/ISH Geräten in Kombination mit VENTANA Nachweiskits und Zubehör entwickelt. Die empfohlenen Färbeprotokolle sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 zu finden.

Dieser Antikörper wurde für spezifische Inkubationszeiten optimiert, der Benutzer sollte jedoch die mit diesem Reagenz erzielten Ergebnisse überprüfen.

Die Parameter für die automatisierten Verfahren können gemäß dem Verfahren im Benutzerhandbuch des Geräts angezeigt, gedruckt und bearbeitet werden. Weitere Informationen zu immunhistochemischen Färbeverfahren können dem Methodenblatt des entsprechenden VENTANA Nachweiskits entnommen werden.

Weitere Hinweise zur ordnungsgemäßen Verwendung dieses Produkts finden Sie im Methodenblatt des integrierten Spenders (Art.-Nr 805-4713 oder Art.-Nr 825-4713).

Tabelle 2. Empfohlenes Färbeprotokoll für CINtec p16 Histology mit *ultraView* Universal DAB Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

Art der Vorgehensweise	Methode		
	GX	XT	ULTRA oder ULTRA PLUS
Entparaffinisierung	Ausgewählt	Ausgewählt	Ausgewählt
Cell Conditioning (Antigendemaskierung)	CC1, Standard	CC1, Standard	ULTRA CC1, 64 Minuten 95 °C
(Primärer) Antikörper	24 Minuten, 37 °C	16 Minuten, 37 °C	20 Minuten, 36 °C
ultraBlock*	8 Minuten	n/a	n/a
Gegenfärbung	Hematoxylin II, 4 Minuten		
Abschließende Gegenfärbung	Bläuen, 4 Minuten		

* Im ultraBlock-Schritt ist die Verwendung von Antibody Diluent erforderlich.

Tabelle 3. Empfohlenes Färbeprotokoll für CINtec p16 Histology mit *OptiView* DAB IHC Detection Kit auf BenchMark IHC/ISH Geräten.

Art der Vorgehensweise	Methode		
	GX	XT	ULTRA oder ULTRA PLUS
Entparaffinisierung	Ausgewählt	Ausgewählt	Ausgewählt
Cell Conditioning (Antigendemaskierung)	CC1, 32 Minuten	CC1, 48 Minuten	ULTRA CC1, 48 Minuten 100 °C
Vor-Primär-Peroxidase-Inhibitor	Ausgewählt	Ausgewählt	Ausgewählt
(Primärer) Antikörper	8 Minuten, 37 °C	8 Minuten, 37 °C	12 Minuten, 36 °C
Post-Fixiermittel*	8 Minuten	n/a	n/a
Gegenfärbung	Hematoxylin II, 4 Minuten		
Abschließende Gegenfärbung	Bläuen, 4 Minuten		

* Im Post-Fixiermittel-Schritt ist die Verwendung von Antibody Diluent erforderlich.

Durch die Unterschiede bei der Gewebefixierung und -aufbereitung sowie der allgemeinen Merkmale der verwendeten Laborgeräte und der herrschenden Laborbedingungen kann es erforderlich sein, die Inkubationsdauer für den primären Antikörper, die Zellkonditionierung oder die Proteasevorbehandlung je nach verwendeten Proben und Nachweismethoden und nach Ermessen des Ablesers zu verlängern oder zu verkürzen. Weiterführende Informationen über Fixierungsvariablen siehe „Immunohistochemistry Principles and Advances“.³²

NEGATIVE REAGENZKONTROLLE

Zusätzlich zur Färbung mit CINtec p16 Histology sollte ein zweiter Objektträger mit einem geeigneten Negativkontrollreagenz gefärbt werden.

POSITIVE GEWEBEKONTROLLE

Im Rahmen der optimalen Laborpraxis wird jedem Objektträger mit Testprobe ein positiver Kontrollschnitt hinzugefügt. Auf diese Weise können Fehler bei Anwendung der Reagenzien auf den Objektträger erkannt werden. Gewebe mit schwach positiver Färbung ist zur Qualitätskontrolle am besten geeignet. Kontrollgewebe kann sowohl positiv als auch negativ färbende Bestandteile enthalten und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden. Das Kontrollgewebe muss eine frische Probe einer

Autopsie, Biopsie oder eines chirurgischen Eingriffs sein und so schnell wie möglich auf identische Weise wie die Probenschnitte präpariert oder fixiert werden.

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der Leistung von Reagenzien und Geräten verwendet werden und nicht als Unterstützung bei der Erstellung einer spezifischen Diagnose von Testproben. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine positive Färbung nachgewiesen werden kann, gelten die Ergebnisse der Testprobe als ungültig.

Beispiele für positive Kontrollgewebe für diesen Antikörper sind normales Bauchspeicheldrüsengewebe, normales Tonsillengewebe und Zervixkarzinomgewebe. In normalem Tonsillengewebe kommt es zu einer nukleären und/oder zytoplasmatischen Färbung von verstreuten Plattenepithelzellen hauptsächlich im Kryptenepithel und verstreuten follikulären dendritischen Zellen in Keimzentren. Dagegen weisen die meisten Lymphozyten keine Färbung auf (es kann eine Färbung seltener Lymphozyten vorhanden sein).

AUSWERTUNG DER FÄRBUNG / ERWARTETE ERGEBNISSE

Das zelluläre Färbemuster von CINtec p16 Histology ist nukleär und/oder zytoplasmatisch. Die Überexpression des Biomarkers p16^{INK4a} in Gebärmutterhalsbiopsien stellt sich als diffuse, kontinuierliche Färbung von Zellen in den basalen und parabasalen Zellschichten des zervikalen Plattenepithels mit oder ohne Färbung der intermediären oder intermediären bis oberflächlichen Zellschichten dar. Dieses kontinuierliche, diffuse Färbemuster stellt einen positiven CINtec p16 Histology Status dar. Fokale Färbung stellt sich als nicht kontinuierliche Färbung von isolierten Zellen oder kleinen Zellclustern dar, insbesondere nicht von basalen und parabasalen Zellen. Fokale Färbung und Nichtvorliegen einer p16-Färbung gelten als negativer CINtec p16 Histology Status. In Tabelle 4 sind das p16-Färbemuster und die CINtec p16 Histology Statuskriterien aufgeführt.

Tabelle 4. CINtec p16 Histology-Status und p16-Färbemuster.

CINtec p16 Histology Status	p16-Färbemuster	Beschreibung der Färbung
Positiv:	Diffus	Kontinuierliche Färbung von Zellen in den basalen und parabasalen Zellschichten des zervikalen Plattenepithels mit oder ohne Färbung der intermediären oder intermediären bis oberflächlichen Zellschichten
Negativ	Fokal	Färbung von isolierten Zellen oder kleinen Zellclustern, d. h. nicht kontinuierliche Färbung, insbesondere nicht von basalen und parabasalen Zellen.
	Keine p16-Färbung	Negative Färbereaktion im Plattenepithel

SPEZIFISCHE EINSCHRÄNKUNGEN

CINtec p16 Histology kann eine Färbung von Fibroblasten und dem Zylinderepithel in Gebärmutterhalsgewebe ergeben, die die Interpretation nicht beeinträchtigt.

Das *OptiView* Nachweissystem hat generell eine höhere Sensitivität als das *ultraView* Nachweissystem. Die mit diesem Reagenz und diesen Nachweissystemen erhaltenen Ergebnisse müssen vom Benutzer überprüft werden.

Patientengewebe sollte innerhalb von 24 Wochen nach dem Schneiden aus dem Gewebekblock gefärbt werden. Die Färbleistung von CINtec p16 Histology auf Schnitten, die länger als 24 Wochen bei Raumtemperatur gelagert wurden, wurde nicht untersucht.

Proben sollten mindestens 1 Stunde in 10 % NBF, Zinkformalin oder Z-Fix oder mindestens 3 Stunden in AFA fixiert werden. Fixierungszeiten und Fixiermitteltypen, die von den Empfehlungen abweichen, können zu falsch negativen Resultaten führen. Alkohol-Formalin und PREFER Fixative werden für die Verwendung mit diesem Assay nicht empfohlen.

Es sind möglicherweise nicht alle Assays auf jedem Gerät registriert. Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem Roche-Vertreter vor Ort.

LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE LEISTUNG

Es wurden Färbetests auf Sensitivität, Spezifität, Präzision und Genauigkeit durchgeführt; die Ergebnisse sind unten aufgeführt.

Sensitivität und Spezifität

Die analytische Sensitivität und Spezifität wurden durch Färben mehrerer Fälle von normalen und neoplastischen Humangeweben mit CINtec p16 Histology bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 und Tabelle 6 zusammengefasst. In vielen normalen Geweben war eine Färbung vereinzelter Zellen oder spezieller Zelltypen festzustellen. Dies ist aufgrund der Rolle des p16^{INK4a}-Proteins bei der Regulierung des Zellzyklus zu erwarten.

Tabelle 5. Sensitivität/Spezifität von CINtec p16 Histology wurden durch das Testen von normalen FFPE-Geweben ermittelt.

Gewebe	Anzahl positiver/aller Fälle	Positive Zellen in normalem Gewebe
Großhirn	4/4	Gliazellen
Kleinhirn	3/3	Purkinje-Zellen
Nebenniere	3/3	Epithelzellen der Nebennierenrinde
Eierstock	3/3	Stromazellen
Bauchspeicheldrüse	3/3	Langerhans-Inseln, Azinuszellen
Lymphknoten	3/3	Lymphozyten, follikuläre dendritische Zellen
Nebenschilddrüse	2/3	Hauptzellen
Hirnanhangsdrüse	3/3	Epithelzellen im Hypophysenvorderlappen
Hoden	3/3	Spermatogene Zellen, Leydig-Zellen
Schilddrüse	3/3	Follikelzellen
Brust	3/3	Myoepithelzellen, luminale Epithelzellen, Stromazellen
Milz	3/3	Lymphozyten, follikuläre dendritische Zellen
Tonsille	6/6	Platteneithelzellen, Lymphozyten, follikuläre dendritische Zellen
Thymus	3/3	Thymusepithelzellen, Lymphozyten, Hassall-Körperchen
Knochenmark	2/3	Myeloide Zellen
Lunge	3/3	Pneumozyten, Bronchialepithelzellen
Herz	0/3	Keine positiven Zellen
Speiseröhre	3/3	Platteneithelzellen
Magen	3/3	Epithelzellen, Fundusdrüsen
Dünndarm	3/3	Epithelzellen
Dickdarm	3/3	Epithelzellen
Blinddarm	0/3	Keine positiven Zellen
Leber	0/3	Keine positiven Zellen
Speicheldrüse	3/3	Streifenstück-Epithelzellen, seröse Azinuszellen
Pharynx/Mundhöhle	2/3	Epithelzellen der Atemwege, Streifenstück-Epithelzellen, muköse Azinuszellen, seröse Azinuszellen

Gewebe	Anzahl positiver/aller Fälle	Positive Zellen in normalem Gewebe
Niere	3/3	Tubuli-Epithelzellen, Mesangiumzellen der Glomeruli
Prostata	3/3	Azinuszellen, Basalzellen
Blase	3/3	Urothelzellen
Gebärmutterschleimhaut	3/3	Drüsenzellen in der Gebärmutterschleimhaut, Stromazellen
Gebärmutterhals ^a	1/120	Platteneithelzellen
Skelettmuskel	0/3	Keine positiven Zellen
Haut	0/3	Keine positiven Zellen
Nerv	4/4	Schwann-Zellen
Mesothel	0/3	Keine positiven Zellen
Weichgewebe	3/3	Endothelzellen, Fibroblasten, duktales Zellen

^a Es wurden normales Gebärmutterhalsgewebe und Gewebe einer chronischen Zervixitis untersucht. Gebärmutterhalsfälle wurden basierend auf dem CINtec Histology Bewertungsalgorithmus interpretiert, bei dem eine Färbung von normalem Platteneithel (fokale Färbung), endozervikalen Zellen oder Stromazellen als negativ erachtet wird.

Tabelle 6. Sensitivität/Spezifität von CINtec p16 Histology wurden durch das Testen von verschiedenen neoplastischen FFPE-Geweben ermittelt.

Pathologie	Anzahl positiver/aller Fälle
Glioblastom (Cerebrum)	1/1
Meningeom (Cerebrum)	1/1
Ependymom (Kleinhirn)	1/1
Oligodendrogliom (Kleinhirn)	1/1
Adenokarzinom (Kopf und Hals)	1/1
Platteneithelkarzinom (Kopf und Hals)	0/1
Seröses Karzinom (Ovarien)	1/1
Granulosazelltumor (Ovarien)	1/1
Teratom (Ovarien)	1/1
Neuroendokrine Neoplasie des Pankreas (Pankreas)	1/1
Duktales Adenokarzinom (Pankreas)	1/1
Seminom (Hoden)	1/1
Embryonalkarzinom (Hoden)	1/1
Follikuläres Karzinom (Schilddrüse)	1/1
Papilläres Karzinom (Schilddrüse)	0/1
Duktales Karzinom in situ (Brust)	1/1
Invasives duktales Karzinom (Brust)	1/1
Invasives lobuläres Karzinom (Brust)	1/1
Adenom (Nebenniere)	1/1
Phäochromozytom (Nebenniere)	1/1
Diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom (Milz)	0/1

Pathologie	Anzahl positiver/aller Fälle
Pleomorphes Adenom (Speicheldrüse)	1/1
Warthin-Tumor (Speicheldrüse)	1/1
Kleinzelliges Karzinom (Lunge)	1/1
Plattenepithelkarzinom (Lunge)	0/1
Adenokarzinom (Lunge)	1/1
Plattenepithelkarzinom (Ösophagus)	0/1
Adenokarzinom (Ösophagus)	1/1
Adenokarzinom (Magen)	1/1
Gastrointestinaler Stromatumor (Magen)	1/1
Adenokarzinom (Dünndarm)	0/1
Gastrointestinaler Stromatumor (Dünndarm)	1/1
Adenokarzinom (Kolon)	1/1
Adenosquamöses Karzinom (Kolon)	1/1
Karzinoidtumor (Blinddarm)	1/1
Hepatozelluläres Karzinom (Leber)	1/1
Cholangiokarzinom (Leber)	0/1
Nierenzellkarzinom (Niere)	1/2
Papilläres Nierenadenom (Niere)	1/1
Adenokarzinom (Prostata)	2/2
Klarzellkarzinom (Uterus)	1/1
Endometrioides Karzinom (Uterus)	1/1
Leiomyom (Uterus)	0/1
Leiomyosarkom (Uterus)	1/1
Zervikale intraepitheliale Neoplasie I (CINI) (Zervix)	12/37
CIN I-II, grenzwertig niedrig vs. hochgradig (Zervix)	2/8
CIN II (Zervix)	52/60
CIN II-III, hochgradig (Zervix)	1/3
CIN III (Zervix)	65/67
Plattenepithelkarzinom (Zervix)	73/76
Adenosquamöses Karzinom (Zervix)	2/2
Adenokarzinom (Zervix)	1/1
Neuroendokrines Karzinom (Zervix)	1/1
Alveoläres Rhabdomyosarkom (Muskel)	0/1
Myxom (Muskel)	1/1
Basalzellkarzinom (Haut)	1/1
Invasives Melanom (Haut)	1/1
Plattenepithelkarzinom (Haut)	0/1
Schwannom (peripherer Nerv)	1/1
Neurofibrosarkom (Nerv)	1/1
Anaplastisches großzelliges Lymphom (Lymphknoten)	1/1
Folikellymphom (Lymphknoten)	1/1
Hodgkin-Lymphom (Lymphknoten)	1/1

Pathologie	Anzahl positiver/aller Fälle
Urothelzellkarzinom (Blase)	1/1
Plattenepithelkarzinom (Blase)	0/1
Plasmozytom (extramedullär)	1/1
Mesotheliom (Mesothel)	1/1
Pleuraler solitärer fibröser Tumor (Mesothel)	1/1
Angiosarkom (Weichgewebe)	1/1
Liposarkom (Weichgewebe)	1/1

Inter-Geräte-Präzision

Es wurden zwei Studien zur Beurteilung der Inter-Geräte-Präzision durchgeführt. Eine Studie wurde auf einem BenchMark XT Gerät und einem BenchMark ULTRA Gerät unter Verwendung von *ultraView* Universal DAB Detection Kit und eine zweite auf einem BenchMark ULTRA Gerät mit OptiView DAB IHC Detection Kit durchgeführt.

In der ersten Studie wurden die Schnitte von zwei Multigewebeblöcken, die zervikales Plattenepithelkarzinom-, Tonsillen- und Bauchspeicheldrüsengewebe enthielten, auf drei BenchMark XT Geräten und drei BenchMark ULTRA Geräten mit dem *ultraView* Universal DAB Detection Kit gefärbt (5 Schnitte von jedem Multigewebeblock pro Gerät). Die Intensität der p16-Färbung (drei BenchMark XT Geräte) lag bei 100 % des Gewebes innerhalb von 0.5 Punkten des Medianwerts. Die Intensität der p16-Färbung (drei BenchMark ULTRA Geräte) lag bei 100 % des Gewebes des zervikalen Plattenepithelkarzinoms (15/15), bei 93 % des Tonsillengewebes (14/15) und bei 93 % des Bauchspeicheldrüsengewebes (14/15) innerhalb von 0.5 Punkten des Medianwerts. Alle mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe wiesen eine akzeptable Hintergrundfärbung auf.

In der zweiten Studie wurde die Präzision des CINtec p16 Histology Tests auf drei BenchMark ULTRA Geräten durch Färbung von Objektträgerreplikaten von 28 zervikalen Fällen (acht Fälle eines normalen Gebärmutterhalses, sechs CIN1-, sechs CIN2-, vier CIN3- und vier Zervixkarzinomfälle) unter Verwendung des OptiView DAB IHC Nachweiskits bestimmt. Jeder Fall wurde auf jedem der drei BenchMark ULTRA Geräte mit jeder der drei Chargen von CINtec p16 Histology gefärbt. Insgesamt wurden von jedem Fall neun mit CINtec p16 Histology gefärbte Objektträger untersucht (drei CINtec p16 Histology Chargen, drei BenchMark ULTRA Geräte). Anschließend wurde jedem mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträger ein H&E-gefärbter Objektträger aus demselben Fall als Gegenstück zugeordnet. Alle Objektträger wurden randomisiert und dann von einem einzigen, gegenüber der Falldiagnose verblindeten Pathologen hinsichtlich der Intensität der p16-Färbung, des CINtec p16 Histology Status (positiv oder negativ) und der Hintergrundfärbung beurteilt. Die Ergebnisse zeigten, dass bei 97.6 % der Gewebe die Intensität der Färbung bei allen Geräten innerhalb von 0.5 Punkten lag. Darüber hinaus wiesen 100 % der mit CINtec p16 Histology auf drei BenchMark ULTRA Geräten gefärbten Schnitte denselben CINtec p16 Histology Status auf. Alle mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe wiesen eine akzeptable Hintergrundfärbung auf.

Zusätzlich wurde die Inter-Geräte-Laborpräzision mit drei BenchMark ULTRA PLUS Geräten durch Färbung von jeweils zwei Objektträgern von 24 Gebärmutterhalsgewebeprobe (elf Fälle eines normalen Gebärmutterhalses, ein CIN1-, zwei CIN2-, sieben CIN3- und drei Plattenepithelkarzinom-Fälle) ermittelt. Die Testobjektträger wurden randomisiert und dann von einem einzigen, gegenüber der Falldiagnose verblindeten Pathologen hinsichtlich des CINtec p16 Histology Status (positiv oder negativ), der Morphologie sowie der nichtspezifischen Färbung (Hintergrund) beurteilt. Die prozentuale Gesamtübereinstimmung lag bei 99.3 %. Morphologie und Hintergrundfärbung waren in 100 % der mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe akzeptabel.

Inter-Chargen-Präzision

Die Inter-Chargen-Präzision von CINtec p16 Histology wurde anhand von drei CINtec p16 Histology Chargen auf einem BenchMark ULTRA Gerät mit OptiView DAB IHC Detection Kit bestimmt. Schnitte von 26 Gebärmutterhals-Biopsiegewebeprobe (sechs Fälle eines normalen Gebärmutterhalses, sechs CIN1-, sechs CIN2-, sechs CIN3- und zwei Zervixkarzinomfälle) wurden in zweifacher Ausfertigung mit jeder CINtec p16

Histology Charge gefärbt. Jeder Objektträger mit Gewebe, das mit CINtec p16 Histology gefärbt wurde, wurde mit einem benachbarten H&E-Objektträger und einem Objektträger mit negativer Reagenzkontrolle aus demselben Fall als Gegenstück zugeordnet. Die Objektträgerreihen wurden randomisiert und dann von einem einzigen Pathologen, der gegenüber der Falldiagnose und der Chargennummer verblindet war, bewertet. Ausgehend von dem mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträger wurde der CINtec p16 Histology Status (positiv = diffuse p16-Färbung; negativ = fokale oder keine p16-Färbung) bestimmt. Die CIN-Kategorien [CIN2+ (CIN2, CIN3, Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom, zusammengefasst als eine Kategorie) und CIN1- (keine CIN oder CIN1, zusammengefasst als eine Kategorie)] wurden auf der Grundlage der gemeinsamen Interpretation von mit H&E gefärbten und mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern bestimmt. Die Ergebnisse demonstrieren die Reproduzierbarkeit von CINtec p16 Histology über drei Produktionschargen des Antikörpers hinweg. Alle Fälle zeigten bei Verwendung der drei Herstellungschargen eine 100%ige positive und negative Übereinstimmung des CINtec p16 Histology Status und eine 98.7%ige Übereinstimmung der CIN-Kategorie. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse ist in Tabelle 7 gezeigt. Die Hintergrundfärbung war in 100 % der gefärbten Gewebe akzeptabel.

Tabelle 7. Inter-Chargen-Reproduzierbarkeit der Chargen des primären Antikörpers von CINtec p16 Histology auf Zervixproben anhand des CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) und der CIN-Kategorie (CIN2+/CIN1-).

Reproduzierbarkeit	Beurteilung	Durchschnittliche positive Übereinstimmung (n/N)	Durchschnittliche negative Übereinstimmung (n/N)	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (n/N)
Inter-Chargen	CINtec Histology Status	100.0 % (352/352)	100.0 % (264/264)	100.0 % (308/308)
	CIN-Kategorie	98.1 % (314/320)	98.0 % (290/296)	98.1 % (302/308)

Intra-Tag-Wiederholpräzision und Inter-Tages-Präzision

Insgesamt wurden drei Studien zur Beurteilung der Intra-Tag-Wiederholpräzision und der Inter-Tages-Präzision durchgeführt. In den ersten beiden Studien beurteilte der Pathologe Gewebe anhand der Intensität der p16-Färbung (0-4), während in der dritten Studie der CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) von Gebärmutterhalsbiopsien bestimmt wurde.

In der ersten Studie wurden die Schnitte von zwei Multigewebeblöcken, die drei Gewebe (zervikales Plattenepithelkarzinom, Tonsille, Bauchspeicheldrüse) enthielten, auf einem BenchMark XT Gerät mit dem *ultraView* Universal DAB Detection Kit gefärbt. In der zweiten Studie wurden zwei Multigewebeblöcke, die Tonsillen, Bauchspeicheldrüse und drei Zervixfälle (invasives Plattenepithelkarzinom, CIN1-, CIN2+) enthielten, auf einem BenchMark ULTRA Gerät mit dem *OptiView* DAB IHC Detection Kit gefärbt. Die Intra-Tages-Wiederholpräzision von CINtec p16 Histology wurde durch das Färben von 14 replizierten Schnitten von jedem Multigewebeblock mit CINtec p16 Histology getestet. CINtec p16 Histology erfüllte die Akzeptanzkriterien, da die Färbeintensität bei 100 % der gefärbten Gewebe in beiden Studien innerhalb von 0.5 Punkten des Medianwerts lag. Die Inter-Tages-Präzision wurde an 5 nicht aufeinanderfolgenden Tagen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen untersucht. In beiden dieser Studien erfüllte CINtec p16 Histology die Akzeptanzkriterien für die Intra-Tag-Wiederholpräzision und die Inter-Tages-Präzision, da die Färbeintensität bei 100 % der gefärbten Gewebe in beiden Studien innerhalb von 0.5 Punkten des Medianwerts lag. Alle mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe wiesen eine akzeptable Hintergrundfärbung auf.

In der dritten Studie wurden 24 Gebärmutterhalsgewebeprobe (drei zervikale Plattenepithelkarzinome, sechs CIN3-, sechs CIN2-, sechs CIN1-Fälle und drei Fälle eines normalen Gebärmutterhalses) nach ihrem CINtec p16 Histology-Status (positiv/negativ) auf einem BenchMark ULTRA Gerät mit *OptiView* DAB IHC Detection Kit beurteilt. Der Test wurde an 5 nicht aufeinanderfolgenden Tagen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen durchgeführt. An jedem Testtag wurden zwei Objektträger jedes Falls mit CINtec p16 Histology gefärbt (insgesamt 150 Objektträger) und ein Objektträger jedes Falls wurde mit einer negativen Reagenzkontrolle gefärbt (insgesamt 75 Objektträger). Für die Analyse der Intra-Tag-Wiederholpräzision wurde der CINtec p16 Histology Status

(positiv/negativ) jeweils innerhalb eines Falles und zwischen zwei beurteilbaren Replikaten desselben Tages verglichen. Da in dieser Studie Beurteilungen an 5 Tagen berücksichtigt wurden, betrug die Gesamtzahl der Vergleiche für jeden Fall hinsichtlich der Intra-Tag-Wiederholpräzision 5. Die Gesamtzahl der Vergleiche für die Studien zur Inter-Tages-Präzision betrug 120 = 24 Fälle x 5 Vergleiche pro Fall.

Die Ergebnisse zeigten eine Intra-Tag-Wiederholpräzision von 100 % und eine Inter-Tages-Präzision von 100 %, wenn die Gewebe nach ihrem CINtec p16 Histology Status beurteilt wurden. Alle mit CINtec p16 Histology gefärbten Schnitte wiesen eine akzeptable Hintergrundfärbung auf.

Zusätzlich wurde die Wiederholbarkeit innerhalb eines Laufs durch Färbung von jeweils fünf Objektträgern von 24 Gebärmutterhalsgewebeprobe (11 Fälle eines normalen Gebärmutterhalses, ein CIN1-, zwei CIN2-, sieben CIN3- und drei Plattenepithelkarzinom-Fälle) auf einem BenchMark ULTRA PLUS Gerät ermittelt. Die Testobjektträger wurden randomisiert und dann von einem einzigen, gegenüber der Falldiagnose verblindeten Pathologen hinsichtlich des CINtec p16 Histology Status (positiv oder negativ), der Morphologie sowie der nichtspezifischen Färbung (Hintergrund) beurteilt. Die prozentuale Gesamtübereinstimmung lag bei 97.5 %. Morphologie und Hintergrundfärbung waren in 100 % der mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe akzeptabel.

Zusätzlich wurde die Inter-Tages-Laborpräzision durch Färbung von jeweils zwei Objektträgern von 24 Gebärmutterhalsgewebeprobe (11 Fälle eines normalen Gebärmutterhalses, ein CIN1-, zwei CIN2-, sieben CIN3- und drei Plattenepithelkarzinom-Fälle) auf einem BenchMark ULTRA PLUS Gerät über einen Zeitraum von mindestens 20 Tagen an 5 nicht aufeinanderfolgenden Tagen bestimmt. Die Inter-Tages-Laborpräzision lag bei 98.8 %. Morphologie und Hintergrundfärbung waren in 100 % der mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe akzeptabel.

Inter-Plattform- und Inter-Nachweiskit-Genauigkeit

Die Genauigkeit des Assays wurde auf den Plattformen BenchMark ULTRA, BenchMark XT und BenchMark GX mit *OptiView* DAB IHC Detection Kit und *ultraView* Universal DAB Detection Kit bestimmt. Insgesamt wurden 186 Zervixfälle mit CINtec p16 Histology gefärbt und hinsichtlich des CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) und der Hintergrundfärbung (akzeptabel/nicht akzeptabel) bewertet. Die OPA für jede paarweise Kombination der Plattformen mit jeweils demselben Nachweiskit und für jede paarweise Kombination der Nachweiskits mit jeweils demselben Plattform lag im Bereich von 98.3 % bis 100 %. Alle mit CINtec p16 Histology gefärbten beurteilbaren Fälle wiesen eine akzeptable Hintergrundfärbung auf.

Darüber hinaus wurde in einer Studie die Färbeleistung von CINtec p16 Histology mithilfe von *OptiView* DAB IHC Detection Kit auf dem BenchMark ULTRA PLUS Gerät und auf dem BenchMark ULTRA Gerät verglichen. Einhundertzwanzig (120) Gebärmutterhalsgewebeprobe (60 positiv für CINtec p16 Histology und 60 negativ für CINtec p16 Histology) wurden gefärbt und die gefärbten Objektträger wurden von einem Pathologen, der den CINtec p16 Histology Status ermittelte, bewertet. Die prozentuale Gesamtübereinstimmung lag bei 99.1 %. Morphologie und Hintergrundfärbung waren in 100 % der mit CINtec p16 Histology gefärbten Gewebe akzeptabel.

Intra-Ableser- und Inter-Ableserpräzision

Die Intra-Ableser- und die Inter-Ableserpräzision wurden anhand von 50 Zervixfällen (16 Fälle mit normalem Gebärmutterhals, 12 CIN1-, 12 CIN2-, 6 CIN3- und 4 Zervixkarzinomfälle), gefärbt mit CINtec p16 Histology auf einem BenchMark ULTRA Gerät mit *OptiView* DAB IHC Detection Kit, untersucht.

Alle Objektträger wurden randomisiert und anschließend von drei Pathologen auf ihren positiven/negativen CINtec p16 Histology Status untersucht. Die Pathologen waren gegenüber der Falldiagnose verblindet. Die mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträger wurden erneut randomisiert, um nach einer 4-wöchigen Auswaschphase von jedem der drei Pathologen ein zweites Mal hinsichtlich des CINtec p16 Histology Status beurteilt zu werden. Die prozentuale Gesamtübereinstimmung sowohl der Intra-Ableser- als auch der Inter-Ableserpräzision bezüglich des CINtec p16 Histology Status lag bei 98.7 %, wie in Tabelle 8 gezeigt.

In der Studie der Intra-Ableser- und Inter-Ableserpräzision bezüglich der CIN-Kategorie wurde jeder mit CINtec p16 Histology gefärbte Objektträger einem H&E-gefärbten Objektträger aus demselben Fall zugeordnet und die Objektträgerpaare wurden randomisiert. Die CIN-Kategorie (CIN2+/CIN1-) wurde von drei Pathologen ausgehend von der gleichzeitigen Interpretation von mit H&E und mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern untersucht. Nach einer Auswaschphase von mindestens 4 Wochen wurden die Objektträgerpaare erneut randomisiert und eine zweite Beurteilung der CIN-Kategorie durch jeden der drei Pathologen wurde durchgeführt. Die Daten in Tabelle 8 zeigen, dass

die prozentuale Gesamtübereinstimmung der Intra-Ableser- und Inter-Ableserpräzision bezüglich der CIN-Kategorie 98.0 % bzw. 90 % betrug.

Tabelle 8. Intra-Ableser- und Inter-Ableserpräzision des CINtec p16 Histology Assays auf Gebärmutterhalsgewebeprobe anhand des CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) und der CIN-Kategorie (CIN2+/CIN1-).

Ableserpräzision	Beurteilung	Durchschnittliche positive Übereinstimmung (95 %-KI)	Durchschnittliche negative Übereinstimmung (95 %-KI)	Prozentuale Gesamtübereinstimmung (95 %-KI)
Intra-Ableser	CINtec p16 Histology Status	98.7 % (93.9-100.0 %)	98.6 % (93.0-100.0 %)	98.7 % (94.0-100.0 %)
	CIN-Kategorie	97.4 % (89.1-100.0 %)	98.4 % (92.6-100.0 %)	98.0 % (92.0-100.0 %)
Inter-Ableser	CINtec p16 Histology Status	98.7 % (93.1-100.0 %)	98.6 % (92.3-100.0 %)	98.7 % (93.9-100.0 %)
	CIN-Kategorie	87.0 % (71.8-97.6 %)	91.9 % (83.0-98.5 %)	90.0 % (80.0-98.0 %)

Reproduzierbarkeitsstudie (Studie zur Inter-Labor-Präzision)

Mit CINtec p16 Histology wurde eine Studie zur Inter-Labor-Reproduzierbarkeit durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit des Assays bei der Bestimmung des CINtec p16 Histology Status und der CIN Kategorie anhand von 27 Zervixfällen (10 ohne CIN, 5 CIN1-, 5 CIN2-, 5 CIN3-Fälle und 2 Zervixkarzinomfälle) auf drei BenchMark ULTRA Geräten an jedem von drei nicht aufeinanderfolgenden Tagen in drei externen Labors zu untersuchen. Die Proben waren randomisiert und von insgesamt sechs Pathologen (zwei Pathologen/Einrichtung) sowohl hinsichtlich des CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) als auch der CIN-Kategorie (CIN2+/CIN1-) ausgehend von der gleichzeitigen Interpretation von mit H&E und mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern untersucht. Die Pathologen waren gegenüber der Falldiagnose verblindet. Die Ergebnisse zum CINtec p16 Histology Status und zur CIN Kategorie sind in Tabelle 9 bzw. Tabelle 10 zu finden. Die Akzeptanzraten in Bezug auf Morphologie und Hintergrundfärbung bei allen sechs Pathologen in allen Einrichtungen betragen 96.3 % bzw. 97.1 %. Die Daten zeigen eine ausgezeichnete Übereinstimmung der Reproduzierbarkeit des Assays über Einrichtungen, Tage und Pathologen hinweg.

Tabelle 9. Übereinstimmung der Inter-Labor-Reproduzierbarkeit des CINtec p16 Histology Status (positiv/negativ) von Zervixproben.

Übereinstimmungsraten für die Inter-Labor-Reproduzierbarkeit (CINtec p16 Histology Status)	Durchschnittliche positive Übereinstimmung	Durchschnittliche negative Übereinstimmung	Prozentuale Gesamtübereinstimmung
Inter-Einrichtung (3 Einrichtungen)	96.2 % (91.2-99.3 %)	93.9 % (86.3-99.0 %)	95.3 % (90.6-99.2 %)
Inter-Tag (3 nicht aufeinanderfolgende Tage)	98.2 % (95.9-99.7 %)	97.1 % (93.3-99.5 %)	97.8 % (95.5-99.5 %)
Inter-Ableser (2 Pathologen/Einrichtung)	95.5 % (87.8-100.0 %)	92.9 % (82.6-100.0 %)	94.4 % (87.1-100.0 %)

Tabelle 10. Inter-Labor-Reproduzierbarkeit: Übereinstimmung der CIN-Kategorie (CIN2+/CIN1-) von Zervixproben ausgehend von der gleichzeitigen Interpretation von mit H&E und mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern.

Übereinstimmungsraten für die Inter-Labor-Reproduzierbarkeit (CIN-Kategorie)	Durchschnittliche positive Übereinstimmung	Durchschnittliche negative Übereinstimmung	Prozentuale Gesamtübereinstimmung
Inter-Einrichtung (3 Einrichtungen)	94.4 % (86.8-98.8 %)	94.1 % (86.7-98.6 %)	94.3 % (88.5-98.6 %)
Inter-Tag (3 nicht aufeinanderfolgende Tage)	96.9 % (93.1-99.2 %)	96.6 % (93.0-99.1 %)	96.8 % (94.0-99.1 %)
Inter-Ableser (2 Pathologen/Einrichtung)	95.0 % (87.4-98.9 %)	94.8 % (88.6-98.9 %)	94.9 % (89.3-98.7 %)

KLINISCHE LEISTUNG

Diagnostische Übereinstimmung

Die CERvical Tissue Adjunctive aNalysis (CERTAIN) Studie wurde durchgeführt, um zu zeigen, dass die ergänzende Bestimmung des CINtec p16 Histology-Status zu einer besseren Einheitlichkeit der Diagnose einer zervikalen intraepithelialen Neoplasie (CIN) und zu einer höheren Übereinstimmung der Interpretation von zervikalem Stanzbiopsiegewebe durch lokale Pathologen (Community Pathologists (CP)) und Pathologieexperten (Expert Pathologists (XP)) führt.

Die klinische Studie CERTAIN wurde an 1100 retrospektiv gesammelten FFPE-Stanzbiopsieproben des Gebärmutterhalses durchgeführt, die eine Kolposkopie-Überweisungspopulation darstellen. Für jeden Studienfall erstellten die XP nur anhand der H&E-gefärbten Objektträger und anhand der mit H&E und CINtec p16 Histology gefärbten Objektträger eine Referenzdiagnose. Zwei XPs erstellten für jeden der 1100 Fälle eine unabhängige Diagnose (keine CIN, CIN1, CIN2, CIN3, Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom) auf der Grundlage der mit H&E gefärbten Objektträger. Den Pathologen lagen auch die folgenden klinischen Informationen vor: Alter der Patientin, Pap-Zytologiebefund und HPV-Testergebnis (sofern verfügbar). Diskordante Fälle wurden von einem dritten XP beurteilt. Fälle, für die keine Zwei-von-Drei-Mehrheitsdiagnose erreicht wurde, wurden im Rahmen einer Besprechung aller drei XPs erneut geprüft. Die Mehrheitsergebnisse (bzw. Konsensergebnisse) bildeten die Experten-Referenzdiagnose für jeden in der Studie bewerteten Fall (als XP1- oder H&E-Referenzdiagnose bezeichnet). Nach einer Auswaschphase von mindestens vier Wochen beurteilten dieselben XPs sowohl die mit H&E als auch die mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträger, um eine Diagnose zu stellen: keine CIN; LSIL-Histologie/CIN1; HSIL-Histologie/CIN2; HSIL-Histologie/CIN3; Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom; (als XP2 oder H&E + CINtec p16 Histology-Referenzdiagnose bezeichnet). Der Prozess für den Erhalt der Mehrheitsdiagnosen entsprach dem, der zum Erhalt der Referenzdiagnose nur auf mit H&E gefärbten Objektträgern angewendet wurde. An der Studie nahmen 70 CPs mit Facharztzulassung aus den USA teil. In der ersten Runde (Runde 1, CP1) wurden die 1100 H&E-gefärbten Fälle in vier Beurteilungssets zu je 275 Fällen mit vergleichbarer Verteilung einzelner diagnostischer Kategorien pro Referenzdiagnose unterteilt. Die 70 CPs wurden in vier Gruppen mit je 17 oder 18 Pathologen aufgeteilt. Für jeden Fall innerhalb des ihnen zugewiesenen Beurteilungssets lagen den Pathologen die folgenden klinischen Informationen vor: Alter der Patientin, Pap-Zytologiebefund und HPV-Testergebnis (sofern verfügbar). Die CPs stellten ihre Diagnosen unabhängig voneinander für jeden den ihnen zugewiesenen Fälle auf der Grundlage des H&E-gefärbten Objektträgers: keine CIN; CIN1; CIN2; CIN3; Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom. Jeder Studienfall wurde von 17 oder 18 lokalen Pathologen einzeln abgelesen.

In der zweiten Runde (Runde 2, CP2) beurteilten die CPs die mit H&E gefärbten Objektträger zusammen mit den paarweise zugeordneten, mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern aus derselben Fallgruppe innerhalb des ihnen zugewiesenen Beurteilungssets. Nach einer Auswaschphase von mindestens 4 Wochen zwischen Runde 1 und 2 stellte jeder Pathologe unabhängig seine Diagnose: keine CIN; LSIL-Histologie/CIN1; HSIL-Histologie/CIN2; HSIL-Histologie/CIN3; Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom. Die CPs notierten den CINtec p16 Histology Status (CINtec p16 Histology positiv = diffuse p16-Färbung; CINtec p16 Histology negativ = fokale oder keine

p16-Färbung) zusammen mit ihrer histologischen Diagnose unter Verwendung sowohl des mit H&E gefärbten Objektträgers als auch des mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgers. Das Hauptziel dieser Studie bestand darin, die Verbesserung der diagnostischen Übereinstimmung nachzuweisen, ohne die positive prozentuale Übereinstimmung zu beeinträchtigen, d. h. die Wahrscheinlichkeit das ein positives Testergebnis mit einer Diagnose von \geq CIN2 (CIN2, CIN3, Adenokarzinom in situ oder invasives Karzinom, zusammengefasst als eine Kategorie) oder \leq CIN1 (keine CIN oder CIN1, zusammengefasst als eine Kategorie) auf der Grundlage von mit H&E gefärbten Objektträgern (Runde 1) übereinstimmt, im Vergleich zur Interpretation der mit H&E gefärbten Objektträger zusammen mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern (Runde 2).

Verbesserung der Genauigkeit der Diagnose von Pathologieexperten

Die Verbesserung der Genauigkeit der Diagnose von Pathologieexperten wurde durch Vergleich der H&E-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten (XP1) mit der H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten (XP2) ermittelt. Die Analyse wurde anhand der Interpretation aller 1100 Gebärmutterhalsbiopsien durchgeführt. In Tabelle 11 ist die Verbesserung der diagnostischen Genauigkeit zwischen der H&E-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten und der H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten gezeigt. Bei Verwendung von H&E und CINtec p16 Histology bei der diagnostischen Interpretation von Gebärmutterhalsbiopsien identifizierten die XPs 23.7 % mehr \geq CIN2-Fälle als bei der diagnostischen Interpretation nur auf Basis der H&E-Färbung.

Tabelle 11. Übereinstimmung zwischen der H&E-basierten Referenzdiagnose und der H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose für alle Fälle.

		H&E-basierte Referenzdiagnose					Gesamt
		Keine CIN	CIN1	CIN2	CIN3	ACIS* oder Krebs	
H&E- + CINtec p16 Histology-basierte Referenzdiagnose	Keine CIN	693	13	4	0	0	710
	LSIL-Histologie	46	120	4	1	0	171
	HSIL-Histologie	30	31	83	69	1	214
	ACIS* oder Krebs	0	0	0	0	5	5
Gesamt		769	164	91	70	6	1100

* ACIS: Adenokarzinom in situ

Interpretation durch lokale Pathologen auf der Grundlage von H&E oder auf der Grundlage von H&E und CINtec p16 Histology verglichen mit der Referenzdiagnose von Pathologieexperten auf der Grundlage von H&E

Die diagnostische Übereinstimmung zwischen lokalen Pathologen wurde durch Vergleich der H&E-basierten Ergebnisse der lokalen Pathologen in der ersten Runde (CP1) mit der H&E-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten (XP1) und der H&E- + CINtec p16 Histology-basierten Diagnose der lokalen Pathologen in der zweiten Runde (CP2) mit der H&E-basierten Referenzdiagnose der Pathologieexperten (XP1) bestimmt. Die Übereinstimmungsraten und Konfidenzintervalle (KI), die über die Fälle und Ableser gemittelt wurden, sind in Tabelle 12 dargestellt. Es wurde ein statistisch signifikanter Anstieg der PPA, des Indikators für den Nachweis von \geq CIN2-Läsionen (+6.8 % bei einem 95 %-KI: 4.7 % bis 9.0 %), festgestellt. Darüber hinaus erhöhte sich die negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) für den Nachweis von \leq CIN1 um 1.3 % (95 %-KI: 0.5 % bis 2.3 %).

Tabelle 12. Positive und negative Übereinstimmungsraten der Ergebnisse von lokalen Pathologen mit H&E-gefärbten Objektträgern gegenüber H&E-gefärbten und CINtec p16

Histology-gefärbten Objektträgern mit H&E-basierten Referenzdiagnosen von Experten (XP1).

Endpunkt	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Unterschied	p-Wert
PPA % (95 %-KI)	83.5 % (79.9, 86.8)	90.3 % (87.5, 92.7)	6.8 % (4.7, 9.0)	< .0001
NPA % (95 %-KI)	90.4 % (89.4, 91.4)	91.8 % (90.6, 92.9)	1.3 % (0.5, 2.3)	0.0032

Hinweis: Die Differenz beträgt aufgrund eines Rundungsfehlers nicht 1.4 %: H&E = 90.44 %, H&E + CINtec Histology = 91.76 %, Differenz = 1.32 %.

Abb. 2 enthält ein Übersichtsdiagramm der diagnostischen Genauigkeit der einzelnen lokalen Pathologen bei der Diagnose von \geq CIN2 vs. \leq CIN1 anhand von nur mit H&E gefärbten Objektträgern verglichen mit der Verwendung von mit H&E gefärbten und mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern gegenüber der H&E-basierten Referenzdiagnose von Experten. Dargestellt sind die PPA und die NPA (negative prozentuale Übereinstimmung, d. h. die Übereinstimmung eines negativen Testergebnisses mit \leq CIN1 durch XP1) der Interpretation durch jeden Pathologen für Runde 1 (nur mit H&E gefärbte Objektträger – blaue Kreise) vs. Runde 2 (mit H&E gefärbte Objektträger und mit CINtec p16 Histology gefärbte Objektträger – rote Dreiecke). Die Vorhersageellipsen zeigen den Bereich der von den meisten Pathologen erwarteten PPA- und NPA-Leistung an: 80 % sollten innerhalb der Ellipsen und 20 % außerhalb der Ellipsen liegen. Diese Daten zeigen, dass die Interpretation von Zervixbiopsien unter Verwendung von H&E- sowie von CINtec p16 Histology-gefärbten Objektträgern die diagnostische Übereinstimmung verbessert und die Variabilität zwischen den Ablesern verringert.

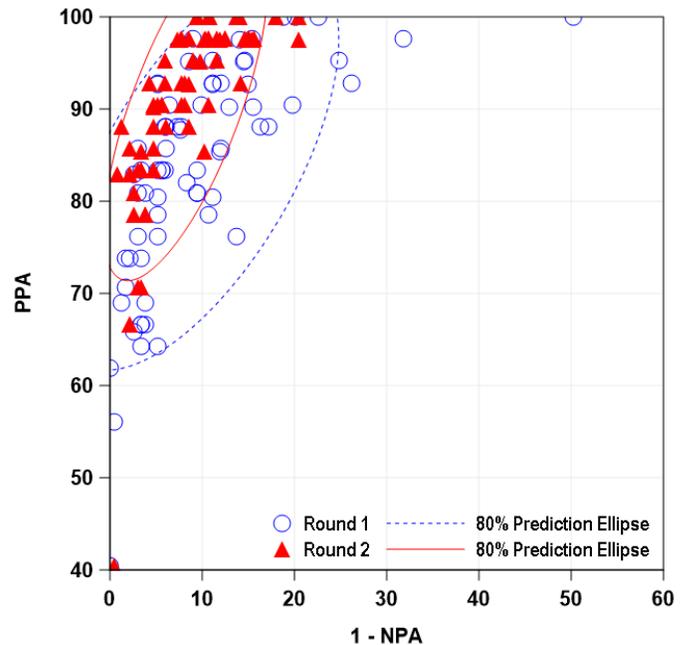


Abb. 2. Übersichtsdiagramm der diagnostischen Übereinstimmung (PPA verglichen mit 1-NPA) der Diagnose von \geq CIN2 verglichen mit \leq CIN1 durch lokale Pathologen unter Verwendung von nur H&E (Runde 1) und von H&E + CINtec p16 Histology (Runde 2) im Vergleich zu der H&E-basierten Referenzdiagnose von Experten (XP1) (80 % Vorhersageellipsen wurden unter der Annahme einer bivariaten Normalität erstellt).

Interpretation durch lokale Pathologen auf der Grundlage von H&E oder auf der Grundlage von H&E und CINtec p16 Histology

verglichen mit der Referenzdiagnose von Pathologieexperten auf der Grundlage von H&E + CINtec p16 Histology

Anschließend wurden die Ableseergebnisse der lokalen Pathologen, die beide Methoden (H&E + CINtec p16 Histology vs. nur H&E) verwendeten, mit der Referenzdiagnose (XP2) verglichen, die von Gynäkopathologieexperten unter Verwendung von mit H&E und CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern durchgeführt wurde. Die Pathologieexperten waren gegenüber den Ergebnissen ihrer ersten individuellen Ablesung und der Konsens-H&E-basierten Referenzdiagnose verblindet. Der Prozess für den Erhalt der Konsensdiagnosen entsprach dem vorstehend beschriebenen Prozess zum Erhalt der H&E-basierten Referenzdiagnose.

Die Ableseergebnisse der lokalen Pathologen auf der Grundlage von ausschließlich mit H&E gefärbten Objektträgern verglichen mit H&E-gefärbten und CINtec p16 Histology-gefärbten Objektträgern wurden analysiert und mit der von den Experten erstellten H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose verglichen (Tabelle 13). Diese Ergebnisse belegen einen statistisch signifikanten Anstieg der PPA (+11.5 % bei einem 95 %-KI: 9.3 % bis 13.5 %) und der NPA (+3.0 % bei einem 95 %-CI: 2.2 % bis 3.7 %).

Tabelle 13. Positive (PPA) und negative (NPA) Übereinstimmungsrate der Ergebnisse von lokalen Pathologen mit H&E-gefärbten Objektträgern gegenüber H&E-gefärbten und CINtec p16 Histology-gefärbten Objektträgern mit H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnosen von Experten (XP2).

Endpunkt	H&E	H&E + CINtec p16 Histology	Unterschied	p-Wert
PPA % (95 %-KI)	73.3 % (69.6, 76.9)	84.8 % (82.1, 87.1)	11.5 % (9.3, 13.5)	< .0001
NPA % (95 %-KI)	92.2 % (91.3, 93.1)	95.2 % (94.4, 96.0)	3.0 % (2.2, 3.7)	< .0001

Abb. 3 enthält ein Übersichtsdiagramm der diagnostischen Genauigkeit der einzelnen lokalen Pathologen bei der Diagnose von \geq CIN2 verglichen mit \leq CIN1 anhand von nur mit H&E gefärbten Objektträgern verglichen mit der Verwendung von H&E-gefärbten und CINtec p16 Histology-gefärbten Objektträgern gegenüber der H&E + CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose von Experten. Dargestellt sind die PPA und die NPA der Interpretation durch jeden Pathologen für Runde 1 (nur H&E – blaue Kreise) vs. Runde 2 (H&E und CINtec p16 Histology – rote Dreiecke). Die Vorhersageellipsen zeigen den Bereich der von den meisten Pathologen erwarteten PPA- und NPA-Leistung an: 80 % sollten innerhalb der Ellipsen und 20 % außerhalb der Ellipsen liegen. Diese Daten zeigen, dass die Interpretation von Zervixbiopsien unter Verwendung von H&E- sowie von CINtec p16 Histology-gefärbten Objektträgern die diagnostische Übereinstimmung verbessert und die Variabilität zwischen den Ablesern verringert.

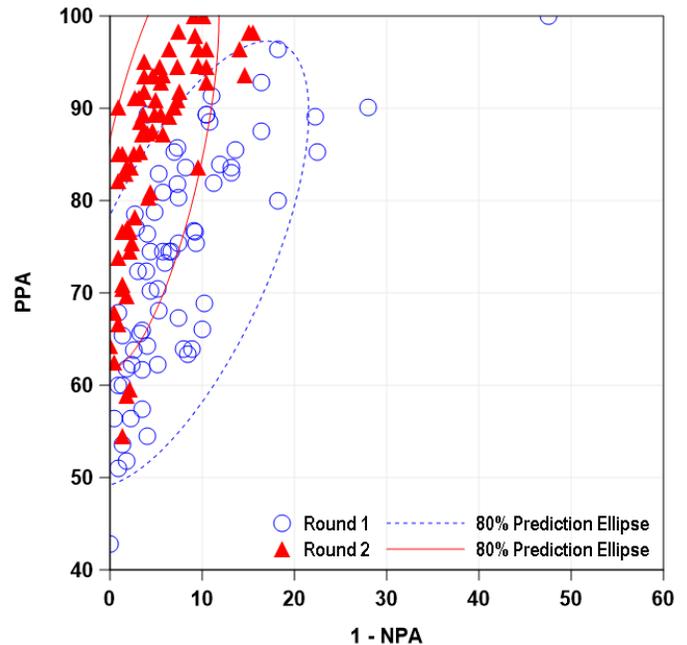


Abb. 3. Übersichtsdiagramm der diagnostischen Übereinstimmung (PPA verglichen mit 1 NPA) der Diagnose von \geq CIN2 verglichen mit \leq CIN1 durch lokale Pathologen unter Verwendung von nur H&E (Runde 1) und von H&E und CINtec p16 Histology (Runde 2) im Vergleich zu der H&E- und CINtec p16 Histology-basierten Referenzdiagnose von Experten (XP2) (80 % Vorhersageellipsen wurden unter der Annahme einer bivariaten Normalität erstellt).

Färbeleistung von CINtec p16 Histology

Das sekundäre Ziel dieser Studie war die Bewertung der Färbeleistung des CINtec p16 Histology Assays auf der Basis der Auswertung der Objektträger der Studie durch die lokalen Pathologen. In der Studie wurden von den 70 lokalen Pathologen insgesamt 19250 Bestimmungen des CINtec p16 Histology Status durchgeführt. Als Kriterien für die Färbeleistung wurden die Gesamtakzeptanz der Färbung, die Akzeptanz der Hintergrundfärbung und die morphologische Akzeptanz beurteilt. Die Ergebnisse zeigen eine Akzeptanzrate von > 99 % für alle Färbekriterien (Tabelle 14).

Tabelle 14. Färbeleistung von CINtec p16 Histology.

Endpunkt	Anzahl der Interpretationen n/N	Rate
Färbeakzeptanz	19074 / 19250	99.09 %
Morphologische Akzeptanz	19249 / 19250	99.99 %
Hintergrundakzeptanz	19249 / 19250	99.99 %

Fazit

Die Verwendung von mit CINtec p16 Histology gefärbten Objektträgern ergänzend zu H&E-gefärbten Objektträgern bei der Interpretation erhöht die diagnostische Übereinstimmung beim Nachweis von hochgradigen CIN-Läsionen (\geq CIN2) in Zervixstanbiopsien. Diese verbesserte Übereinstimmung ist sowohl auf eine Zunahme der PPA (die Übereinstimmung eines positiven Testergebnisses mit der Diagnose \geq CIN2) als auch der NPA (die Übereinstimmung eines negativen Testergebnisses mit der Diagnose CIN1 oder Keine CIN) zurückzuführen. Darüber hinaus verbessert sich die Konsistenz der Diagnosen zwischen lokalen Pathologen untereinander sowie mit einem Fachgremium.

LITERATURANGABEN

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Voorhoeve PM, Agami R. The tumor-suppressive functions of the human INK4A locus. *Cancer Cell.* 2003;4:311-319.
5. 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.
6. 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.
7. Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-330.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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, Simoons 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, Saftlas 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-Diaz 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.

HINWEIS: In diesem Dokument wird statt einem Komma ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet, um die Vorkomma- von den Nachkommastellen zu trennen. Es werden keine Tausendertrennzeichen verwendet.

Eine Zusammenfassung der Sicherheit und Leistung ist verfügbar auf: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbole

Ventana verwendet die folgenden Symbole und Zeichen zusätzlich zu den Symbolen und Zeichen gemäß Norm ISO 15223-1 (für die USA: elabdoc.roche.com/symbols für weitere Informationen):



Globale Artikelidentnummer (GTIN)

Rx Only

Für die USA: Vorsicht Der Verkauf dieses Produkts ist laut Bundesgesetz nur durch einen Arzt oder auf Anordnung eines Arztes zulässig.

VERSIONSVORLAUF

Rev.	Updates
H	Der Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“ wurde aktualisiert, der Hinweis zu Rx only wurde hinzugefügt und auf die aktuelle Vorlage umgestellt.

GEISTIGES EIGENTUM

VENTANA, BENCHMARK, CİNTEC, OPTİVIEW und ULTRAVIEW sind Marken von Roche. Alle sonstigen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.

© 2024 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

KONTAKTDATEN



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

