

CINtec® PLUS Cytology Kit

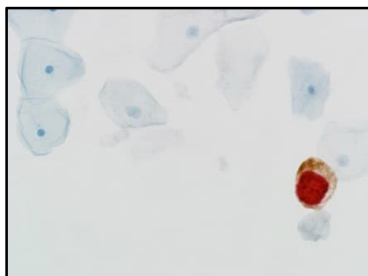
REF

605-100

06889565001

IVD

Σ 100



Rys. 1. Komórka nabłonkowa szyjki macicy dodatnia względem białka p16^{INK4a} (brązowe barwienie cytoplazmatyczne) oraz białka Ki-67 (czerwone barwienie jądrowe).

nieokreślonym charakterze) lub LSIL (śródnałonkowe zmiany małego stopnia w obrębie nabłonka płaskiego) oraz pacjentek z dodatnim wynikiem testu na obecność wirusa HPV wysokiego ryzyka.

Wyniki testu mogą być interpretowane wyłącznie przez wykwalifikowanego specjalistę na podstawie historii klinicznej pacjenta i wyników dodatkowych testów diagnostycznych.

Ten produkt jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).

STRESZCZENIE I INFORMACJE OGÓLNE

Progresja cyklu prowadzącego do podziału komórek eukariotycznych jest regulowana przez złożony wzorec kontrolowanej ekspresji i potranslacyjnych modyfikacji białek regulujących cykl komórkowy. W tym mechanizmie regulacji cyklu komórkowego komórek eukariotycznych kluczową rolę odgrywa białko p16^{INK4a}. Białko to bierze udział w kontroli przejścia między fazami G1/S regulowanej przez białko pRb (retinoblastoma protein, pRb) i powoduje hamowanie cyklu komórkowego w przebiegu procesów różnicowania komórkowego. Zatem podczas standardowej progresji cyklu komórkowego białko p16^{INK4a} ma działanie antyproliferacyjne.¹ W ostatecznie zróżnicowanych komórkach nabłonkowych ekspresja białka p16^{INK4a} jest obniżona do poziomu zwykle niewykrywalnego metodami immunocytochemicznymi (ICC).²

W przypadku dysplazji szyjki macicy nadekspresja białka p16 jest uważana za zastępczy biomarker transformacji infekcji wirusem HPV, odzwierciedlający aktywację proliferacji komórek napędzanej przez onkoproteinę E6/E7 wirusa HPV.^{2,3,4,5} Detekcja białka p16 w preparatach cytologicznych z szyjki macicy jest proponowana jako cenny, dodatkowy marker ułatwiający klasyfikację kobiet z nieprawidłowymi wynikami badania cytologicznego, jak również z dodatnimi wynikami testów na obecność wirusa HPV.^{3,4,5} Swoiste wybarwienie względem białka p16 może jednak występować w pojedynczych komórkach metaplastycznych lub komórkach szyjki macicy, w których białko p16 może ulegać ekspresji w ramach swojej naturalnej, fizjologicznej funkcji hamowania wzrostu komórkowego, przez co podczas interpretacji preparatów cytologicznych pojedynczo wybarwionych pod kątem białka p16 wymagana jest identyfikacja immunoreaktywnych komórek z białkiem p16 oraz dalsza klasyfikacja tych komórek na podstawie oznak nieprawidłowości morfologicznych.^{2,3,4}

Wykazano, że połączona jednoczesna detekcja białka p16 i markera proliferacji Ki-67 w tej samej komórce przy użyciu metod ICC stanowi cenne narzędzie umożliwiające identyfikację dysplastycznych komórek szyjki macicy w preparatach cytologicznych, bez konieczności interpretacji morfologicznej.^{3,7,8} Ki-67 jest białkiem jądrowym i jądrowym ściśle związanym z proliferacją komórek i jest niewykrywalne przy użyciu standardowych metod barwienia immunologicznego w komórkach spoczynkowych (G0).⁶ W normalnych warunkach fizjologicznych ekspresja związanego z proliferacją białka Ki-67 oraz ekspresja antyproliferacyjnego białka p16 wzajemnie się wykluczają (nie występują jednocześnie). Natomiast komórki, w których szlak (regulowany przez białko siatkowca, pRB)

kontrolujący progresję cyklu komórkowego zostaje zniesiony przed aktywacją supresorowej funkcji białka p16 względem guza (np. komórki nabłonkowe wykazujące ekspresję onkoprotein E6/E7 wirusa HPV wysokiego ryzyka) mogą proliferować i tym samym wykazywać ekspresję białka Ki-67 w obecności funkcjonalnego białka p16.^{2,3} Z tego względu detekcja w preparatach cytologicznych z szyjki macicy pojedynczych komórek wykazujących jednoczesną koekspresję białek p16 i Ki-67 może służyć jako niezależny od morfologii wskaźnik komórek o rozregulowanym cyklu komórkowym. Koekspresja białek p16 i Ki-67 może służyć jako wskaźnik transformującego zakażenia wirusem HPV i zasadniczej śródnałonkowej neoplazji szyjki macicy.^{2,3} W ostatnim czasie przeprowadzono i opublikowano wiele badań oceniających potencjalną wartość i użyteczność kliniczną cytologii z podwójnym barwieniem p16/Ki-67 w identyfikacji kobiet, które mogą odnieść korzyść ze skierowania na kolposkopię na podstawie różnych wyników pierwotnych badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. Wyniki te obejmują klasyfikację kobiet, u których w ramach badania cytologicznego wykryto komórki Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) lub zmiany Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), kobiet z dodatnim wynikiem względem wirusa HPV wysokiego ryzyka w pierwotnym badaniu przesiewowym pod kątem wirusa HPV oraz kobiet z wynikiem Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM) i dodatnim wynikiem testu na obecność wirusa HPV w środowisku klinicznym, w którym w ramach pierwotnych badań przesiewowych wykonywane są jednoczesne badania cytologiczne i testy na HPV. 7–25

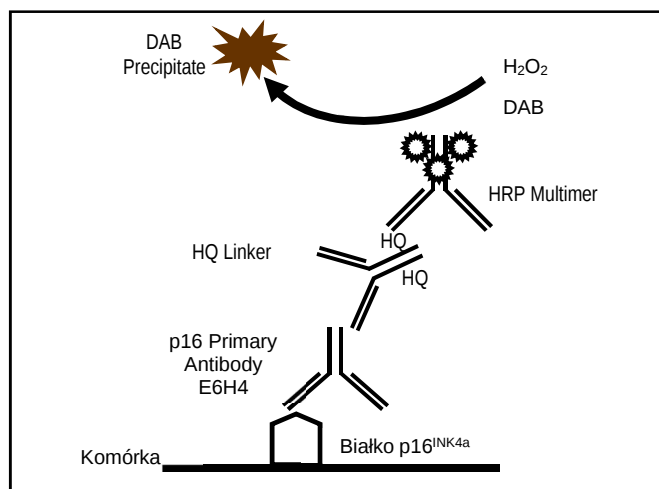
ZASADA DZIAŁANIA

Produkt CINtec PLUS Cytology Kit zawiera zestaw odczynników przeznaczonych do jednoczesnej immunocytochemicznej detekcji białek p16^{INK4a} i Ki-67 w próbkach cytologicznych pobranych z szyjki macicy. Białka są wykrywane za pomocą gotowego do użycia koktajlu pierwszorzędowych przeciwciał monoklonalnych, w którego skład wchodzi rekombinowane mysie przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko ludzkiemu białku p16^{INK4a} (klon E6H4™) oraz pierwszorzędowe rekombinowane przeciwciało królicze skierowane przeciwko ludzkiemu białku Ki-67 (klon 274-11AC3V1). Po kondycjonowaniu komórek, hamowaniu aktywności endogennej peroksydazy i inkubacji z koktajlem przeciwciał pierwszorzędowych, w teście wykorzystywane są dwa gotowe do użycia systemy detekcji zoptymalizowane do stosowania w próbkach cytologicznych z szyjki macicy:

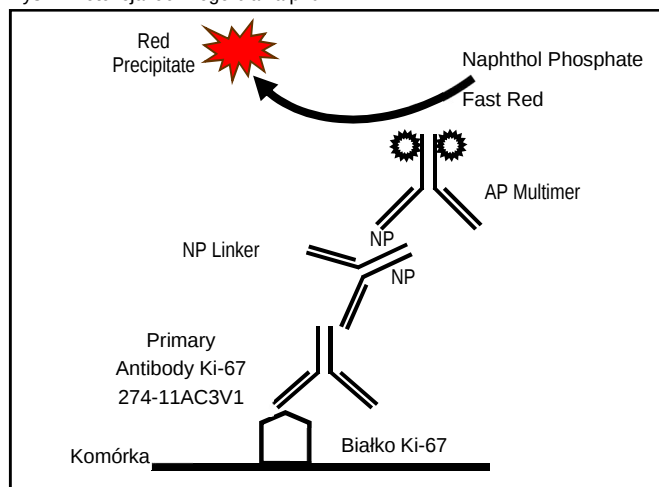
- Kozie przeciwciało drugorzędowe skierowane przeciwko przeciwciałom mysim kowalencyjnie przyłączone do haptenu HQ (hapten zastrzeżony) i trzeciorzędowe przeciwciało skoniugowane z peroksydazą chrzanową (HRP), skierowane przeciwko haptenu HQ, zoptymalizowane do detekcji mysiego przeciwciała monoklonального, klonu E6H4;
- Kozie przeciwciało drugorzędowe skierowane przeciwko przeciwciałom króliczym kowalencyjnie przyłączone do haptenu NP (hapten zastrzeżony) i trzeciorzędowe przeciwciało skoniugowane z fosfatazą alkaliczną (AP), skierowane przeciwko haptenu NP, zoptymalizowane do detekcji rekombinowanego przeciwciała króliczego, klonu 274-11AC3V1.

Reakcje chromogenne opierają się na zachodzącej za pośrednictwem HRP konwersji tetrachlorowodoru 3,3'-diaminobenzyny (DAB) oraz zachodzącej za pośrednictwem AP konwersji barwnika Fast Red w obecności odczynnika Naphthol Phosphate. W wyniku tych reakcji odpowiednio dochodzi do wytrącenia brązowego osadu w miejscu występowania antygenu p16^{INK4a} oraz czerwonego osadu w miejscu występowania antygenu Ki-67.

Po automatycznym wybarwieniu kontrastowym i wybarwieniu na niebiesko (bluing) następuje dwuetapowa procedura zatapiania. Najpierw preparat jest zatapiany przy użyciu wodnego środka do zatapiania. Następnie na preparat jest наносzone szkło nakrywkowe przy użyciu środka do ostatecznego zatapiania. Wyniki barwienia są oceniane pod mikroskopem świetlnym.



Rys. 2. Detekcja ludzkiego białka p16^{INK4a}.



Rys. 3. Detekcja ludzkiego białka Ki-67.

DOSTARCZONE MATERIAŁY

Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przeprowadzenia 100 testów.

- Jeden dozownik 10 mL CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) to koktajl rekombinowanego mysiego przeciwciała monoklonalnego, klon E6H4, skierowanego przeciwko ludzkiemu białku p16^{INK4a}, oraz rekombinowanego pierwszorzędowego przeciwciała króliczego, klon 274-11AC3V1, skierowanego przeciwko ludzkiemu białku Ki-67 (< 5 µg/mL), w buforze z dodatkiem białka i środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker zawiera kozie przeciwciało anty-królicze IgG znakowane NP (< 10 µg/mL; NP to zastrzeżony hapten kowalencyjnie związany z przeciwciałem kozim) w buforze z dodatkiem białka i środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer zawiera mysie monoklonalne przeciwciało trzeciorzędowe anty-NP znakowane AP (< 20 µg/mL) w buforze z dodatkiem białka i środka ProClin 300, będącego konserwantem.

- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate zawiera fosforan naftolu (Naphthol Phosphate) (< 1%) z dodatkiem środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology Fast Red zawiera chromogen Fast Red (< 1%) w buforze octanowym z dodatkiem środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor zawiera roztwór nadtlenu wodoru (< 5%).
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker zawiera kozie przeciwciało anty-mysie IgG znakowane HQ (< 40 µg/mL; HQ to zastrzeżony hapten kowalencyjnie związany z przeciwciałem kozim) w buforze z dodatkiem białka i środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer zawiera mysie monoklonalne przeciwciało trzeciorzędowe anty-HQ znakowane HRP (< 10 µg/mL) w buforze z dodatkiem białka i środka ProClin 300, będącego konserwantem.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology DAB zawiera tetrachlorowodorek 3,3'-diaminobenzyny (< 1%) w zastrzeżonym roztworze stabilizującym z dodatkiem zastrzeżonego środka konserwującego.
- Jeden dozownik 10 mL Odczynnik CINtec PLUS Cytology DAB H₂O₂ zawiera nadtlenek wodoru (< 1%) w roztworze buforu fosforanowego.

ODTWARZANIE, MIESZANIE, ROZCIEŃCZANIE, MIARECZKOWANIE

Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit został zoptymalizowany do użytku w aparatach BenchMark IHC/ISH. Odtwarzanie, mieszanie, rozcieńczanie lub miareczkowanie odczynników wchodzących w skład zestawu nie jest konieczne.

Odstąpienie od zalecanych procedur utrwalania i dalszego przetwarzania próbek cytologicznych wymazów z szyjki macicy może doprowadzić do znacznej zmienności wyników, wymagając regularne przeprowadzanie kontroli procesu wykonywanego w laboratorium.

Więcej informacji na temat kontroli przedstawiono w części Kontrola jakości.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE

W skład dostarczonego zestawu nie wchodzi odczynniki do barwienia, takie jak zestawy detekcyjne firmy VENTANA, ani elementy pomocnicze, takie jak dodatnie i ujemne kontrolne preparaty tkankowe.

Nie wszystkie produkty przedstawione w arkuszu metody są dostępne we wszystkich regionach geograficznych. Odpowiednich informacji udzieli lokalny przedstawiciel działu pomocy technicznej.

Wymienione niżej odczynniki i materiały są wymagane do przeprowadzenia barwienia, ale nie są dostarczane z zestawem detekcyjnym:

1. Odpowiednie kontrole (opcjonalnie, patrz część „Kontrola jakości”)
2. Hematoxylin Counterstain (nr kat. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (nr kat. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (nr kat. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (nr kat. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (nr kat. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (nr kat. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (nr kat. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (nr kat. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (nr kat. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol, etanol skażony (czystość ≥ 95%)
12. Aparat BenchMark IHC/ISH
13. Szkiełka mikroskopowe Superfrost Plus (Thermo Fisher Scientific) do wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną (zalecane)
14. Szkiełka mikroskopowe ThinPrep Arcless (Hologic REF 70126-002) lub szkiełka mikroskopowe Superfrost Plus (VWR REF 48311-703)

15. Roche Cell Collection Medium (REF 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic REF 234004)
17. Szkiełka BD SurePath PreCoat (dostarczane w zestawie SurePath GYN)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD REF 490522)
19. Wodny środek do zatapiania CC/Mount (Roche REF 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Opcjonalnie: piec suszący umożliwiający utrzymanie temperatury 60°C ± 5°C
21. Sprzęt laboratoryjny do ogólnego użytku

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Produkt, bezpośrednio po odebraniu i zawsze, gdy nie jest używany, należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Nie zamrażać. Użytkownik jest zobowiązany do walidacji warunków przechowywania różniących się od tych określonych w arkuszu metody. Zestawu detekcyjnego można użyć bezpośrednio po wyjęciu go z lodówki.

W celu zapewnienia właściwego dozowania odczynników i stabilności odczynników po każdym użyciu na dozownik należy założyć zatyczkę i niezwłocznie umieścić go w lodówce w pozycji pionowej.

Każdy zestaw detekcyjny jest oznaczony datą ważności. Prawidłowo przechowywany produkt zachowuje stabilność do daty podanej na etykiecie. Nie używać produktu po upływie daty ważności dla zalecanej metody przechowywania. Nie stwierdzono jednoznacznych oznak, które mogłyby wskazywać na niestabilność tego produktu; dlatego podczas badania nieznanymi preparatami należy jednocześnie wykonać badanie kontroli dodatniej. W razie wystąpienia oznak wskazujących na niestabilność odczynników należy niezwłocznie skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

1. Do stosowania w diagnostyce in vitro (IVD).
2. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.
3. Nie wykonywać większej liczby testów niż liczba określona na etykiecie.
4. Nie używać produktu, jeśli opakowanie któregośkolwiek elementu zestawu jest uszkodzone. W przypadku stwierdzenia naruszenia opakowania lub uszkodzenia elementów zestawu należy niezwłocznie skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.
5. W tym roztworze jako środek konserwujący zastosowano roztwór ProClin 300. Uznano go za środek drażniący, a jego kontakt ze skórą może powodować uczulenie. Podczas pracy z produktem należy stosować uzasadnione środki ostrożności. Unikać kontaktu odczynników z oczami, skórą i błonami śluzowymi. Stosować odpowiednią odzież i rękawice ochronne.
6. Materiały pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego należy traktować jako materiały stanowiące potencjalne zagrożenie biologiczne i usuwać je z zachowaniem właściwych środków ostrożności. W przypadku narażenia należy przestrzegać wytycznych określonych w dyrektywach wydanych przez właściwe organy.^{26,27}
7. Podczas pracy z odczynnikami należy stosować uzasadnione środki ostrożności. Unikać kontaktu odczynników z oczami, skórą i błonami śluzowymi. Unikać wdychania odczynników. Podczas pracy z materiałami o domniemanym działaniu rakotwórczym lub materiałami toksycznymi należy nosić rękawiczki jednorazowe i odpowiednią odzież ochronną.
8. W przypadku kontaktu odczynników z wrażliwymi miejscami splukiwać obficie dużą ilością wody.
9. Unikać skażenia mikrobiologicznego odczynników ze względu na możliwość otrzymania nieprawidłowych wyników.
10. Aby uzyskać więcej informacji dotyczących stosowania tego wyrobu, należy zapoznać się z przewodnikiem użytkownika aparatu BenchMark IHC/ISH oraz instrukcjami stosowania wszystkich wymaganych elementów. Instrukcje te można znaleźć pod adresem navifyportal.roche.com.
11. W celu uzyskania informacji na temat zalecanej metody użycia produktu należy skontaktować się z władzami lokalnymi i/lub krajowymi.
12. Podczas pracy z próbkami cytologicznymi, w tym próbkami zarówno przed, jak i po utwardzeniu, a także wszystkimi materiałami, które miały z nimi kontakt, oraz podczas usuwania próbek i materiałów tego typu należy przestrzegać środków bezpieczeństwa dotyczących postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym oraz stosownych wytycznych dotyczących usuwania odpadów tego typu.
13. Oznakowanie dotyczące bezpieczeństwa produktu jest przede wszystkim zgodne z wytycznymi GHS UE. Karta charakterystyki jest dostępna na życzenie profesjonalnego użytkownika.

14. W celu zgłoszenia podejrzenia wystąpienia poważnych incydentów związanych z tym wyrobem należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche i właściwym organem państwa członkowskiego lub kraju, którego rezydentem jest użytkownik.

Ten zestaw detekcyjny zawiera elementy sklasyfikowane w określony poniżej sposób zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008:

Tab. 1. Informacje o zagrożeniach.

Zagrożenie	Kod	Zwrot
	H317	Może powodować reakcję alergiczną skóry.
	H350	Może powodować raka.
	H412	Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.
	P201	Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
	P261	Unikać wdychania mgły lub par.
	P273	Unikać uwolnienia do środowiska.
	P280	Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu.
	P308 + P313	W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
	P333 + P363	W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.

Ten produkt zawiera substancje o numerach CAS:

- 868272-85-9: tetrachlorowodorek 3,3'-diaminobenzyny, wodzian;
- 2682-20-4: 2-metylo-2H-izotiazol-3-on;
- 55965-84-9, masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3:1).

PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Z próbkami cytologicznymi należy postępować w odpowiedni sposób, aby zachować je do procedur immunocytochemicznych. Wszystkie próbki należy poddać standardowym metodom przetwarzania komórek.

W celu uniknięcia przeniesienia do próbki materiałów, takich jak krew i śluz, które mogłyby utrudnić ocenę preparatu, oraz w celu zapewnienia zgodności próbki z wytycznymi Bethesda Guidelines²⁸, pracownicy placówek ochrony zdrowia powinni postępować zgodnie z zalecanymi technikami pobierania próbek.

W przypadku stosowania zestawu CINtec PLUS Cytology Kit odpowiednie są poniższe metody przygotowania preparatów:

- preparaty ThinPrep (Hologic Inc.) przygotowane w aparacie ThinPrep 2000 lub 5000 Processor (Hologic Inc.) przy użyciu szkiełek ThinPrep Arcless Microscope lub Superfrost Plus zgodnie z zaleceniami producenta;
- preparaty BD SurePath (BD Diagnostics) przygotowane zgodnie z zaleceniami producenta;
- ręcznie przygotowane preparaty (preparaty wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną).

Zalecane jest przeprowadzenie badania odpowiednich kontroli jednocześnie z próbkami pacjenta (w celu uzyskania szczegółowych informacji patrz część „Kontrola jakości”).

Przygotowanie próbek w podłożu Roche Cell Collection Medium

Próbki cytologiczne pobrane przez pracownika opieki zdrowotnej i zawieszone w podłożu Roche Cell Collection Medium (RCCM), przeznaczone do barwienia metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit można przechowywać w temperaturze 15–30°C przez 6 tygodni i przez dodatkowe 12 tygodni w warunkach chłodniczych w temperaturze 2–8°C.

Do przeprowadzenia barwienia metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w aparatach BenchMark IHC/ISH wymagane są szkiełka ThinPrep Arcless Microscope lub Superfrost Plus.

Przygotowanie preparatów z próbek zebranych do podłoża Roche Cell Collection Medium przy użyciu aparatu ThinPrep 2000 Processor

Preparaty są przygotowywane z próbek zebranych do podłoża Roche Cell Collection Medium przy użyciu aparatu ThinPrep 2000 Processor. Po ukończeniu programu w aparacie ThinPrep 2000 Processor przetworzony preparat znajduje się w fiolce ze środkiem utrwalającym, zawierającej roztwór etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Wyjąć fiolkę z uchwytu na wanienkę ze środkiem utrwalającym aparatu ThinPrep 2000 Processor i przenieść przetworzony preparat z fiolki do pojemnika na preparaty napełnionego roztworem etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Inkubować preparat w etanolu przez co najmniej 15 minut, ale nie dłużej niż przez 60 minut. Roztwór etanolu w fiolce ze środkiem utrwalającym i pojemniku na preparaty należy wymieniać po każdym przygotowaniu 20 preparatów. Po upływie okresu inkubacji wyjąć preparaty z roztworu etanolu i suszyć je poziomo na płaskiej powierzchni przez co najmniej 60 minut. Osuszone preparaty należy przechowywać w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Przygotowanie preparatów z próbek zebranych do podłoża Roche Cell Collection Medium przy użyciu aparatu ThinPrep 5000 Processor

Preparaty są przygotowywane z próbek zebranych do podłoża Roche Cell Collection Medium przy użyciu aparatu ThinPrep 5000 Processor. Po ukończeniu programu w aparacie ThinPrep 5000 Processor przetworzone preparaty znajdują się w statywie na preparaty, zanurzonym w wanience z roztworem środka utrwalającego i etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Z aparatu ThinPrep 5000 Processor wyjąć wanienkę ze środkiem utrwalającym lub pojemnik na preparaty, a następnie inkubować preparaty przez co najmniej 15 minut, ale nie dłużej niż przez 60 minut. Roztwór etanolu w pojemniku na preparaty należy wymieniać po ukończeniu każdego cyklu w aparacie. Po upływie okresu inkubacji wyjąć preparaty z roztworu etanolu i suszyć je poziomo na płaskiej powierzchni przez co najmniej 60 minut. Osuszone preparaty należy przechowywać w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Przed barwieniem preparatów metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit należy usunąć pierwotną etykietę wykorzystywaną przez aparat ThinPrep 5000 Processor.

Przygotowanie próbek w roztworze PreservCyt

Próbki cytologiczne w roztworze PreservCyt Solution (PC) przeznaczone do barwienia metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit można przechowywać w temperaturze 15–30°C przez 6 tygodni i przez dodatkowe 12 tygodni w warunkach chłodniczych w temperaturze 2–8°C.

Do przeprowadzenia barwienia metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w aparatach BenchMark IHC/ISH wymagane są szkiełka ThinPrep Arcless Microscope lub Superfrost Plus.

Przygotowanie preparatów (opcja Slide Preparation) z próbek zebranych do roztworu PreservCyt przy użyciu aparatu ThinPrep 2000 Processor

Preparaty są przygotowywane przy użyciu aparatu ThinPrep 2000 Processor z próbek cytologicznych pobranych przez pracownika opieki zdrowotnej i zawieszonych w roztworze PreservCyt. Po ukończeniu programu w aparacie ThinPrep 2000 Processor przetworzony preparat znajduje się w fiolce ze środkiem utrwalającym, zawierającej roztwór etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Wyjąć fiolkę z uchwytu na wanienkę ze środkiem utrwalającym aparatu ThinPrep 2000 Processor i przenieść przetworzony preparat z fiolki do pojemnika na preparaty napełnionego roztworem etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Inkubować preparat w etanolu przez co najmniej 15 minut, ale nie dłużej niż przez 60 minut. Roztwór etanolu w fiolce ze środkiem utrwalającym i pojemniku na preparaty należy wymieniać po każdym przygotowaniu 20 preparatów. Po upływie okresu inkubacji wyjąć preparaty z roztworu etanolu i suszyć je poziomo na płaskiej powierzchni przez co najmniej 60 minut. Osuszone preparaty należy przechowywać w temperaturze 15–30°C, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Przygotowanie preparatów (opcja Slide Preparation) z próbek zebranych do roztworu PreservCyt przy użyciu aparatu ThinPrep 5000 Processor

Preparaty są przygotowywane przy użyciu aparatu ThinPrep 5000 Processor z próbek cytologicznych pobranych przez pracownika opieki zdrowotnej i zawieszonych w

roztworze PreservCyt. Po ukończeniu programu w aparacie ThinPrep 5000 Processor przetworzone preparaty znajdują się w statywie na preparaty, zanurzonym w wanience z roztworem środka utrwalającego i etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$. Z aparatu ThinPrep 5000 Processor wyjąć wanienkę ze środkiem utrwalającym lub pojemnik na preparaty, a następnie inkubować preparaty przez co najmniej 15 minut, ale nie dłużej niż przez 60 minut. Roztwór etanolu w pojemniku na preparaty należy wymieniać po ukończeniu każdego cyklu w aparacie. Po upływie okresu inkubacji wyjąć preparaty z roztworu etanolu i suszyć je poziomo na płaskiej powierzchni przez co najmniej 60 minut. Osuszone preparaty należy przechowywać w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Przed barwieniem preparatów metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit należy usunąć pierwotną etykietę wykorzystywaną przez aparat ThinPrep 5000 Processor.

Przygotowanie próbek do preparatów BD SurePath

Próbki cytologiczne pobrane przez pracownika opieki zdrowotnej i zawieszone w odczynniku SurePath Preservative Fluid, przeznaczone do barwienia metodą immunocytochemiczną przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit można przechowywać w temperaturze 15–30°C przez maksymalnie 4 tygodnie lub w warunkach chłodniczych w temperaturze 2–10°C przez 6 miesięcy.

Przygotowanie preparatu (opcja Slide Preparation) BD SurePath natychmiast po przygotowaniu preparatu do barwienia cytologicznego

Po uzyskaniu wzbogaconego osadu komórkowego przeznaczonego do przygotowania preparatu do barwienia cytologicznego można od razu użyć go do przygotowania drugiego preparatu do wybarwienia przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit. Należy przestrzegać zaleceń producenta dotyczących korzystania z opcji „Slide Preparation” (Przygotowanie preparatu) [opcja 2] dla próbek GYN w aparacie PrepStain™. W opcji menu „Change Sample/Stain Parameters” (Zmień parametry próbki/barwienia) należy zmienić objętość zawieszania na 0 mL.

Przygotowanie preparatu (opcja Slide Preparation) BD SurePath z zakonserwowanego osadu komórkowego

Wzbogacone osady komórkowe można zakonserwować, dodając około 2 mL płynu SurePath Preservative Fluid, i przechowywać w zamkniętych probówkach (szczegółowe informacje — patrz instrukcje producenta). Osady komórkowe zawieszone w płynie konserwującym można przechowywać, licząc od daty pobrania próbki, przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze 15–30°C lub przez 6 miesięcy w chłodzarnie nastawionej na temperaturę 2–10°C. W celu przygotowania preparatu do przetworzenia za pomocą zestawu CINTec PLUS Cytology Kit najpierw należy przenieść próbkę do temperatury pokojowej na 60 minut. Rozpocząć od drugiego etapu wirowania w procesie wzbogacania GYN i wykonać pozostałe etapy wstępnego przetwarzania zgodnie z instrukcją producenta dotyczącą ponownego przetwarzania zakonserwowanych osadów komórkowych. Przestrzegać zaleceń producenta dotyczących korzystania z opcji „Slide Preparation” (Przygotowanie preparatu) [opcja 2] dla próbek GYN w aparacie PrepStain.

W przypadku wszystkich opcji przygotowywania preparatów wymienionych powyżej, gdy krok dotyczący transferu preparatów zostanie ukończony, wyciągnąć z aparatu PrepStain statyw na preparaty. Obrócić statyw, aby zlać płyn. Do każdej komory osadzania za pomocą pipety dodać po 2 mL roztworu etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$ i od razu zlać płyn. Po raz drugi przepłukać przy użyciu 2 mL roztworu etanolu do użytku laboratoryjnego o stężeniu $\geq 95\%$ i inkubować przez 10 minut. Ponownie zlać płyn poprzez odwrócenie statywu. Zdjąć komory osadzania z preparatów i suszyć preparaty poziomo na płaskiej powierzchni przez co najmniej 60 minut. Osuszone preparaty należy przechowywać w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Użycie wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną

Wymazy wykonywane metodą konwencjonalną należy utrwalić niezwłocznie po pobraniu próbki, używając w tym celu odczynnika do utrwalaania preparatów cytologicznych w spreju zawierającego glikol polietylenowy (np. Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific). Wymazy wykonane metodą konwencjonalną i utrwalone przy użyciu odczynnika w spreju należy przechowywać w temperaturze pokojowej, chroniąc je przed światłem. Preparaty należy wybarwić przy użyciu zestawu CINTec PLUS Cytology Kit w ciągu 7 dni od ich przygotowania.

Przed załadowaniem preparatów do aparatu BenchMark IHC/ISH nie są wymagane żadne dodatkowe etapy przetwarzania wstępnego.

PROCEDURA BARWIENIA

Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit opracowano do stosowania w aparatach BenchMark IHC/ISH razem z odczynnikami pomocniczymi i akcesoriami firmy VENTANA.

Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit został zoptymalizowany zgodnie z parametrami przedstawionymi w Tabelach 2, 3 i 4. Użytkownik musi zwalidować wyniki uzyskiwane za pomocą tego zestawu.

Parametry protokołów zautomatyzowanych mogą być wyświetlane, drukowane i edytowane zgodnie z instrukcjami zawartymi w przewodniku użytkownika aparatu.

Tab. 2. Zalecany protokół barwienia w aparacie BenchMark GX dla przygotowanych preparatów ThinPrep i SurePath oraz preparatów wymazów przygotowanych metodą konwencjonalną.

Procedura barwienia	GX CINtec PLUS Cytology		
Opcje do wyboru	Rodzaj opcji Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konwencjonalny
ThinPrep	Wybrane	Niewybrane	Niewybrane
SurePath	Niewybrane	Wybrane	Niewybrane
Inne	Niewybrane	Niewybrane	Wybrane
Opcja Cell Conditioning	Niedostępne do wyboru	Niedostępne do wyboru	16 min
Czas inkubacji z przeciwciałem	16 min	20 min	16 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HQ Linker Inc	12 min	16 min	12 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HRP Multimer Inc	6 min	8 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Blaug	4 min	4 min	4 min

Tab. 3. Zalecane protokoły barwienia w aparacie BenchMark XT dla przygotowanych preparatów ThinPrep, SurePath i preparatów wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną.

Procedura barwienia	XT CINtec PLUS Cytology		
Opcje do wyboru	Rodzaj opcji Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konwencjonalny
ThinPrep	Wybrane	Niewybrane	Niewybrane
SurePath	Niewybrane	Wybrane	Niewybrane
Inne	Niewybrane	Niewybrane	Wybrane

Procedura barwienia	XT CINtec PLUS Cytology		
Opcje do wyboru	Rodzaj opcji Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konwencjonalny
Opcja Cell Conditioning	Niedostępne do wyboru	Niedostępne do wyboru	16 min
Czas inkubacji z przeciwciałem	16 min	20 min	16 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HQ Linker Inc	12 min	16 min	12 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Blaug	4 min	4 min	4 min

Tab. 4. Zalecany protokół barwienia w aparatach BenchMark ULTRA lub BenchMark ULTRA PLUS dla przygotowanych preparatów ThinPrep i SurePath oraz preparatów wymazów przygotowanych metodą konwencjonalną.

Procedura barwienia	U CINtec PLUS Cytology		
Opcje do wyboru	Rodzaj opcji Slide Preparation		
	RCCM/ThinPrep	SurePath	Konwencjonalny
ThinPrep	Wybrane	Niewybrane	Niewybrane
SurePath	Niewybrane	Wybrane	Niewybrane
Inne	Niewybrane	Niewybrane	Wybrane
Opcja Cell Conditioning	Niedostępne do wyboru	Niedostępne do wyboru	16 min
Czas inkubacji z przeciwciałem	16 min	16 min	16 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HQ Linker Inc	12 min	16 min	12 min
Czas inkubacji z odczynnikiem HRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem NP Linker Inc	8 min	16 min	8 min
Czas inkubacji z odczynnikiem AP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min

Hematoxylin	8 min	8 min	8 min
Bliuing	4 min	4 min	4 min

PROCEDURA POSTĘPOWANIA PO OBRÓBCE — ZATAPIANIE I NAKŁADANIE SZKIEŁEK NAKRYWKOWYCH

Aby zachować optymalną czułość i uniknąć wyblaknięcia chromogenów, wymagane jest przeprowadzenie dwuetapowej procedury zatapiania.

Wyciągnąć preparaty z aparatu BenchMark IHC/ISH, a następnie płukać preparaty w wodzie dejonizowanej, destylowanej lub z kranu z dodatkiem łagodnego płynu do mycia naczyń, delikatnie nimi poruszając do momentu całkowitego usunięcia z nich odczynnika LCS.

UWAGA: Nie dopuszczać, aby woda lała się bezpośrednio na preparaty. Ustawić minimalną siłę strumienia wody.

Preparaty są zatapiane zgodnie z dwuetapowym protokołem, dlatego poniższe kroki muszą być kolejno wykonywane:

Zatapianie środkiem wodnym:

1. Preparaty inkubować w wodzie destylowanej lub dejonizowanej przez co najmniej 1 minutę.
2. Podczas nanoszenia wodnego środka do zatapiania CC/Mount na preparaty, pozostałe preparaty, na które nie zostało naniesione szkiełko nakrywkowe, powinny pozostać w wodzie destylowanej lub dejonizowanej.
3. Preparaty wyciągać z wody destylowanej lub dejonizowanej pojedynczo, a następnie ostrożnie wytrzeć dolną stronę preparatu przy pomocy ręcznika papierowego w celu usunięcia nadmiaru wody. Nie osuszać ani nie wycierać wody z wierzchu preparatu (stroną, na której znajduje się próbka).
4. Trzymając preparat pod niewielkim kątem, nanieść 4–6 kropli wodnego środka do zatapiania CC/Mount na preparat ThinPrep lub SurePath lub 8 kropli na preparat wymazu wykonanego metodą konwencjonalną. Unikać tworzenia pęcherzyków powietrza. Aby zapobiegać powstawaniu pęcherzyków powietrza, pierwszą kroplę środka CC/Mount można nanieść na ręcznik papierowy, przed naniesieniem na obszar preparatu z przygotowaną próbką.
5. Delikatnie przechylać szkiełko podstawowe i obracać nim w celu całkowitego przykrycia obszaru z przygotowaną próbką cienką warstwą środka do zatapiania (jeszcze nie nakładać szklanego lub foliowego szkiełka nakrywkowego); obejrzeć preparat w celu sprawdzenia rozprowadzenia środka do zatapiania.
6. Usunąć nadmiar wodnego środka do zatapiania CC/Mount z tylnej powierzchni i krawędzi szkiełka. W razie potrzeby użyć mokrego ręcznika papierowego.
7. Przygotowane preparaty położyć poziomo w celu ich wysuszenia:
 - przygotowane preparaty ThinPrep lub SurePath inkubować w temperaturze 37–60°C przez 1 godzinę lub przez całą noc w temperaturze pokojowej;
 - preparaty wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną inkubować w temperaturze 37°C przez 4 godziny lub w temperaturze 60°C przez 1 godzinę albo przez całą noc w temperaturze pokojowej.

Nakładanie szklanych lub foliowych szkiełek nakrywkowych:

1. Po całkowitym wysuszeniu wodnego środka do zatapiania CC/Mount (w razie potrzeby) pozostawić preparaty do osiągnięcia temperatury pokojowej. Inkubować preparaty w ksylenu przez co najmniej 1 minutę i co najwyżej 20 minut. Następnie nałożyć na preparaty szklane szkiełka nakrywkowe, wykorzystując w tym celu środek do zatapiania na bazie ksylenu, lub foliowe szkiełka nakrywkowe, wykorzystując metodę nakładania szkiełek nakrywkowych za pomocą ksylenu.

UWAGA: Przed odwodnieniem preparatów w szeregu alkoholowym o wzrastającym stężeniu należy najpierw nałożyć na nie szklane lub foliowe szkiełka nakrywkowe.

2. Preparaty pozostawić w temperaturze pokojowej do wyschnięcia środka do zatapiania na bazie ksylenu.

UWAGA: Preparaty należy chronić przed światłem i przechowywać w temperaturze pokojowej w celu zminimalizowania ich blaknięcia.

KONTROLA JAKOŚCI

Odstąpienie od zalecanych procedur utrwalania i dalszego przetwarzania próbek cytologicznych wymazów z szyjki macicy może doprowadzić do znacznej zmienności wyników. Nieprawidłowe działanie produktu spowodowane problemami z obsługą lub

niestabilnością produktu, nie daje widocznych oznak, dlatego podczas badania próbek pacjentów należy jednocześnie wykonać badanie odpowiednich kontroli.

Kontrola dodatnia

Jako kontroli dodatnich należy używać próbek poddanych obróbce w taki sam sposób jak próbki pobrane od pacjenta. Kontrole dodatnie wskazują na prawidłowe przygotowanie próbek oraz odpowiednią technikę barwienia. Do każdego cyklu barwienia należy włączyć jedną kontrolę dodatnią.

Znane kontrole dodatnie powinny być stosowane wyłącznie w celu monitorowania prawidłowego przebiegu barwienia poddanych obróbce próbek i działania odczynników testowych, a nie pomocniczo do określania rozpoznania dla próbek pacjentów. Jeśli nie udaje się potwierdzić obecności odpowiedniego dodatniego barwienia w preparatach do kontroli dodatniej, należy uznać, że wyniki próbek badanych są nieważne.

Negative Control

Wiele różnych typów komórek występujących w reprezentatywnych próbkach cytologicznych z szyjki macicy, o których wiadomo, że są ujemne pod względem ekspresji antygenów p16^{INK4a} i Ki-67 (takich jak komórki powierzchniowe), może służyć jako wewnętrzna kontrola ujemna do oceny barwienia tła.

Weryfikacja badania

Przed pierwszym użyciem zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w procedurze diagnostycznej użytkownik powinien zweryfikować jego działanie poprzez wybarwienie próbek dodatnich i ujemnych, dla których znana jest charakterystyka wyników.

INTERPRETACJA WYBARWIENIA/OCZEKIWANE WYNIKI

Procedura barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit prowadzi do uzyskania dwóch barwnych produktów reakcji: brązowego osadu w miejscach występowania antygeny p16^{INK4a} i czerwonego osadu w miejscach występowania antygeny Ki-67. Brązowe wybarwienie komórek (cytoplazmatyczne i/lub jądrowe) wskazuje na nadekspresję białka p16^{INK4a}. Czerwone (Red) wybarwienie komórek (jądrowe) wskazuje na obecność ekspresji białka Ki-67. Komórki, w których wybarwiono oba antygeny, wykazują brązowy odczyn cytoplazmatyczny, zazwyczaj występujący z wyraźnym czerwonym wybarwieniem jąder komórkowych. Przed przystąpieniem do interpretacji wyników wykwalifikowany patomorfolog/cytotechnolog z doświadczeniem w procedurach immunocytochemicznych oraz po odbytych szkoleniu z interpretacji wyników barwienia próbek zestawem CINtec PLUS Cytology Kit musi dokonać oceny kontroli.

Wyniki testu mogą być interpretowane wyłącznie przez wykwalifikowanego specjalistę na podstawie historii klinicznej pacjenta i wyników dodatkowych testów diagnostycznych.

W celu interpretacji preparatów cytologicznych z szyjki macicy wybarwionych przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit preparaty należy ocenić pod kątem obecności komórek nabłonkowych szyjki macicy wykazujących zarówno brązowe barwienie cytoplazmatyczne, jak i czerwone barwienie jądrowe, wskazujące na jednoczesną ekspresję białek p16^{INK4a} i Ki-67. Ponadto, podobnie jak w przypadku zgłaszania wyników badania cytologicznego, podczas zgłaszania wyniku testu przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit próbki należy ocenić pod kątem adekwatności próbki zgodnie z wytycznymi Bethesda Guidelines 2015 (lub TBS)²⁸.

Dodatni wynik badania

Obecność co najmniej jednej komórki nabłonkowej szyjki macicy, w której równocześnie występują: swoiste, immunologiczne, brązowe barwienie cytoplazmatyczne oraz swoiste, immunologiczne, czerwone barwienie jądrowe uznawana jest za dodatni wynik badania zestawem CINtec PLUS Cytology Kit, niezależnie od cech cytomorfologicznych.

Ujemny wynik badania

Jeśli żadna z komórek nabłonkowych szyjki macicy jednocześnie nie wykazuje immunologicznego, brązowego barwienia cytoplazmatycznego oraz immunologicznego, czerwonego barwienia jądrowego, wynik badania zestawem CINtec PLUS Cytology Kit uznaje się za ujemny.

Obecność komórek nabłonkowych szyjki macicy wykazujących immunoreaktywność tylko jednego, a nie dwóch markerów (na przykład samo brązowe wybarwienie białka p16^{INK4a} albo samo czerwone wybarwienie białka Ki-67) nie jest uznawana za dodatni wynik testu przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

SZCZEGÓLNE OGRANICZENIA

1. Wyłącznie do użytku profesjonalnego. Do przeprowadzenia procedur immunocytochemicznych wymagane jest specjalistyczne szkolenie.

2. Preparaty mikroskopowe wybarwione przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit powinien oceniać wyłącznie wykwalifikowany specjalista przeszkolony w interpretacji wyników tych testów.
3. Interpretacja kliniczna każdego dodatniego lub ujemnego wybarwienia powinna być dokonywana w kontekście rozpoznania klinicznego oraz kryteriów cytologicznych.
4. Interpretacja wyników barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit jest zależna od intensywności i jakości barwienia kontrastowego hematoxylina. Odstąpienie od zaleceń dotyczących odczynników i czasów inkubacji wymaga zwalidowania przez klienta, ponieważ nadmierne lub niekompletne barwienie kontrastowe może skutkować nieprawidłową interpretacją wyników.
5. W próbkach z szyjki macicy często występuje wyraźnie widoczna ilość krwi pełnej. Jeśli stężenie krwi pełnej w próbce przekroczy 1.0%, przed obróbką preparat należy poddać lizie z kwasem octowym lodowatym (glacial acetic acid, GAA) zgodnie z protokołem ThinPrep.
6. W celu przygotowania preparatów wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną przeznaczonych do przeprowadzenia barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit należy używać szkiełek mikroskopowych Superfrost Plus oraz odczynnika do utrwalania preparatów cytologicznych w spreju Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), zawierającego glikol polietylenowy. Jakiegokolwiek odstępstwa od tego zalecenia wymagają zwalidowania przez użytkownika.
7. Podczas przygotowywania próbek ThinPrep nie zaleca się używania aparatu ThinPrep 3000 Processor, ponieważ procedura utrwalania preparatów sprejem przeprowadzana przez aparat może doprowadzić do utraty znacznej części komórek w preparatach barwionych przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.
8. Do przygotowania próbek ThinPrep przeznaczonych do barwienia immunocytochemicznego przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w aparatach BenchMark IHC/ISH wymagane są szkiełka ThinPrep Arcless Microscope, szkiełka do przetwarzania specjalnego ThinPrep Microscope Slides lub szkiełka mikroskopowe Superfrost Plus. W przypadku szkiełek mikroskopowych ThinPrep z nadrukowanym obszarem przeznaczonym do badania może dochodzić do niespójnego barwienia.
9. Producent dostarcza te przeciwciała/odczynniki w rozcieńczeniu optymalnym do użytku zgodnie z zawartymi w tym arkuszu instrukcjami dotyczącymi przeprowadzania testów metodami immunocytochemicznymi na preparatach przygotowanych metodą cytologii na podłożu płynnym (liquid-based cytology, LBC). Wszelkie odchylenia od zalecanych procedur badawczych mogą doprowadzić do unieważnienia opisanych, oczekiwanych wyników; należy włączyć do badania odpowiednie kontrole i udokumentować ten fakt. Użytkownicy, którzy odstępują od zalecanych procedur badawczych, są odpowiedzialni za interpretację otrzymanych w ten sposób wyników badań pacjenta.
10. Wszystkie testy mogą nie być zarejestrowane na każdym aparacie. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

SKUTECZNOŚĆ ANALITYCZNA

Działanie zestawu CINtec PLUS Cytology Kit oceniono na podstawie wyników badań odtwarzalności analitycznej i innych istotnych badań.

Czułość i swoistość analityczna

Czułość i swoistość analityczna przeciwciał pierwszorzędowych skierowanych przeciwko białkom p16 i Ki-67 zostały zbadane przy użyciu testu wykorzystującego metodę Western blot i testu hamowania peptydu.

W testach wykonywanych metodą Western blot wykorzystywane są lizaty z linii komórkowych reprezentujących zakres intensywności wybarwienia. Przeciwciała skierowane przeciwko białku p16^{INK4a} (E6H4) umożliwiały detekcję prążka o masie cząsteczkowej wynoszącej około 15–20 kD w preparacie oczyszczonego rekombinowanego białka p16^{INK4a}. Ponadto przeciwciała wiązało się swoiście wyłącznie do oczyszczonego rekombinowanego białka p16^{INK4a} — nie zaobserwowano wiązania się przeciwciała do innego białka rekombinowanego obecnego w równoważnej ilości. Wykazano również, że przeciwciała wiązało endogenne białko p16^{INK4a} ulegające ekspresji w lizatach pochodzących z linii komórkowych HeLa, SK Mel 28 i DU145 — nie zaobserwowano wiązania się przeciwciała do białek z linii komórkowej MDA MB 231 ujemnej względem białka p16^{INK4a}. Względne poziomy białka p16^{INK4a} wykrytego metodą Western Blot w lizatach ze wszystkich czterech linii komórkowych odpowiadały danym z barwienia IHC, co potwierdziło czułość detekcji przy użyciu przeciwciała anti-p16^{INK4a}

(E6H4). Wiązanie klonu przeciwciała skierowanego przeciwko białku Ki-67 (274-11AC3V1) sprawdzono w teście wykorzystującym metodę Western Blot przy użyciu lizatów całych komórek przygotowanych z linii komórkowych L428 (chłoniak Hodgkina dodatni względem antygenu Ki-67; DSMZ ATCC 197) i LNCaP (linia komórkowa raka gruczołu krokowego wykazująca niską ekspresję białka Ki-67; ATCC CRL-1740). Przeciwciała umożliwiały detekcję endogennego białka Ki-67 w lizatach komórkowych nawet przy niskich poziomach ekspresji, a intensywność prążka korelowała z wynikiem barwienia IHC pod kątem białka Ki-67 w tych liniach komórkowych. Przeciwciała pierwszorzędowe przeciwko białku Ki-67 (274-11AC3V1) zawarte w zestawie CINtec PLUS Cytology Kit przyłączało się do fragmentu oczyszczonego, rekombinowanego białka Ki-67, a nie przyłączało się do niepowiązanego białka rekombinowanego, będącego kontrolą ujemną, obecnego w równoważnej ilości. W przypadku tego testu wiązanie nie zostało wykryte dla linii komórkowej LNCaP o niskiej ekspresji białka Ki-67. Względne poziomy białka Ki-67 wykrytego metodą Western blot w lizatach z tych linii komórkowych korelują z danymi z barwienia IHC oraz danymi dotyczącymi ekspresji mRNA. Wyniki uzyskane metodą Western blot wykazują, że przeciwciała pierwszorzędowe przeciwko białku Ki-67 obecne w zestawie CINtec PLUS Cytology Kit może wykrywać endogenne białko Ki-67 w lizatach komórkowych i fragment rekombinowanego białka Ki-67 w formie oczyszczonej.

W testach hamowania peptydu wykorzystywano roztwory zawierające peptydy swoiste dla białek p16 lub Ki-67. Koktajl przeciwciał pierwszorzędowych został rozcieńczony w stosunku objętościowym 1:1 roztworami peptydów swoistych dla białek p16 lub Ki-67 o różnych stężeniach w celu uwzględnienia różnych stosunków molowych, takich jak około 1-krotny, 10-krotny, 100-krotny, 1000-krotny i 10000-krotny nadmiar molowy peptydu w porównaniu z końcowym stężeniem przeciwciała w roztworze. Koktajl przeciwciał pierwszorzędowych zawierający peptyd swoisty dla białka p16 służył jako kontrola nieswoistego wiązania dla przeciwciała anti-Ki-67, natomiast oddzielny, niepowiązany peptyd Alk-a służył jako kontrola nieswoistego wiązania dla przeciwciała anti-p16. Jeden preparat z każdej próbki (trzy próbki zbiorcze cytologicznych wymazów z szyjki macicy oraz materiał z jednej linii komórkowej CaSki) został wybarwiony przy użyciu każdego roztworu. Wyniki tego badania wykazały, że przeciwciała anti-p16 przyłącza się swoiście do białka p16, a przeciwciała anti-Ki-67 przyłącza się swoiście do białka Ki-67. Zgodnie z przewidywaniami, intensywność wybarwienia białek p16 i Ki-67 została obniżona we wszystkich próbkach wskutek wybarwienia roztworem zawierającym odpowiednie peptydy swoiste w stężeniu 1 M, natomiast całkowite zahamowanie barwienia osiągnięto wskutek użycia roztworów o stężeniu ≥ 10 M. Nie zaobserwowano spadku intensywności barwienia białka p16 po barwieniu przy użyciu roztworów zawierających peptyd nieswoisty lub niezawierających peptydu.

Powtarzalność i precyzja pośrednia

Przeprowadzono badania precyzji barwienia próbek z szyjki macicy ThinPrep przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w celu określenia:

- precyzji wszystkich wyników ogółem — obliczono odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym dla każdej z 12 zbiorczych próbek cytologicznych z szyjki macicy (próbki LBC: 3 próbki zbiorcze HSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza LSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza ASC-US/HPV+, 1 próbka zbiorcza NILM/HPV+, 3 próbki zbiorcze NILM/HPV- oraz 3 próbki zbiorcze z ujemnych linii komórkowych T24). Na potrzeby tego badania wybarwiono po 2 powtórzenia preparatów z każdej próbki zbiorczej przy użyciu 3 partii zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w 5 nienastępujących bezpośrednio po sobie dniach; zostały one ocenione przez 3 zespoły badawcze;
- precyzji między dniami — obliczono odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym dla każdego dnia (od dnia 1 do dnia 5), łącząc dane uzyskane dla 12 zbiorczych próbek cytologicznych z szyjki macicy (próbki LBC: 3 próbki zbiorcze HSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza LSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza ASC-US/HPV+, 1 próbka zbiorcza NILM/HPV+, 3 próbki zbiorcze NILM/HPV- oraz 3 próbki zbiorcze z ujemnych linii komórkowych T24). Na potrzeby tego badania wybarwiono po 2 powtórzenia preparatów z każdej próbki zbiorczej przy użyciu 3 partii zestawu CINtec PLUS Cytology Kit; zostały one ocenione przez 3 zespoły badawcze;
- precyzji między partiami — obliczono odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym dla każdej partii zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (partie 1–3), łącząc dane uzyskane dla 12 zbiorczych próbek cytologicznych z szyjki macicy (próbki LBC: 3 próbki zbiorcze HSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza LSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza ASC-US/HPV+, 1 próbka zbiorcza NILM/HPV+, 3 próbki zbiorcze NILM/HPV- oraz 3 próbki zbiorcze z ujemnych linii komórkowych T24). Na potrzeby tego badania wybarwiono po 2 powtórzenia preparatów w ciągu 5 nienastępujących bezpośrednio po sobie dni; zostały one ocenione przez 3 zespoły badawcze.

Wszystkie preparaty zostały zaślepienie i poddane randomizacji, a następnie ocenione zgodnie z interpretacją wyników barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit. Preparaty były oceniane przez trzy zespoły badawcze. Każdy zespół składał się z cytotechnologa i patomorfologa. W celu obliczenia odsetka wyników identycznych z wynikiem dominującym jako odniesienia używano wyniku dominującego, czyli rodzaju wyniku uzyskiwanego na poziomie próbki zbiorczej (dodatni, ujemny). Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym odpowiada wartości PPA, gdy wynik dominujący jest dodatni, natomiast gdy wynik dominujący jest ujemny, odpowiada wartości NPA. Podsumowanie wyników zawierają Tab. 5, Tab. 6 oraz Tab. 7. Wszystkie przedziały ufności (CI) to dwustronne 95-procentowe przedziały ufności. Przedziały ufności obliczono przy użyciu metody percytylowej bootstrap; w przypadkach, w których oszacowanie punktowe wynosiło 100%, zastosowano metodę oceny Wilsona.

Tab. 5. Badanie precyzji wewnątrzlaboratoryjnej — precyzja wszystkich wyników ogółem

Kategoria próbki zbiorczej	Liczba ocen	Rodzaj wyniku barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym	95-procentowy przedział ufności
Linia komórkowa T24	270	Wynik ujemny	100.0%	(98.6, 100.0)
NILM/HPV-	270	Wynik ujemny	94.1%	(90.7, 97.0)
NILM/HPV+	90	Wynik dodatni	61.1%	(47.2, 74.4)
ASC-US/HPV+	90	Wynik dodatni	93.3%	(88.9, 97.8)
LSIL/HPV+	90	Wynik dodatni	100.0%	(95.9, 100.0)
HSIL/HPV+	270	Wynik dodatni	98.9%	(96.7, 100.0)

Tab. 6. Badanie precyzji w obrębie laboratorium — precyzja między dniami

Kategoria próbki zbiorczej	Liczba ocen	Rodzaj wyniku barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym				
			Dzień 1	Dzień 2	Dzień 3	Dzień 4	Dzień 5
Linia komórkowa T-24	270	Wynik ujemny	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Wynik ujemny	88.9%	90.7%	98.1%	98.1%	94.4%
NILM/HPV+	90	Wynik dodatni	44.4%	50.0%	77.8%	66.7%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Wynik dodatni	94.4%	88.9%	88.9%	94.4%	100.0%
LSIL/HPV+	90	Wynik dodatni	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Wynik dodatni	100.0%	94.4%	100.0%	100.0%	100.0%

Tab. 7. Badanie precyzji w obrębie laboratorium — precyzja między partiami

Kategoria próbki zbiorczej	Liczba ocen	Rodzaj wyniku barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym		
			Partia 1	Partia 2	Partia 3
Linia komórkowa T24	270	Wynik ujemny	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Wynik ujemny	92.2%	93.3%	96.7%
NILM/HPV+	90	Wynik dodatni	46.7%	70.0%	66.7%
ASC-US/HPV+	90	Wynik dodatni	90.0%	96.7%	93.3%
LSIL/HPV+	90	Wynik dodatni	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Wynik dodatni	100.0%	100.0%	96.7%

Precyzja badacza

W celu oceny precyzji badacza trzy zespoły badawcze, każdy składający się z cytotechnologa i patomorfologa, oceniły wszystkie preparaty wybarwione na potrzeby badań precyzji, co obejmowało po 2 powtórzenia preparatów z 12 zbiorczych próbek cytologicznych z szyjki macicy (próbki LBC: 3 próbki zbiorcze HSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza LSIL/HPV+, 1 próbka zbiorcza ASC-US/HPV+, 1 próbka zbiorcza NILM/HPV+, 3 próbki zbiorcze NILM/HPV- oraz 3 próbki zbiorcze z ujemnych linii komórkowych T24) wybarwione przy użyciu 3 partii zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w 5 następujących bezpośrednio po sobie dniach. Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym obliczono na podstawie zagregowanych wyników uzyskanych dla poszczególnych zespołów badawczych i przedstawiono w Tab. 8.

Tab. 8. Badanie precyzji w obrębie laboratorium — precyzja między badaczami

Kategoria próbki zbiorczej	Liczba ocen	Rodzaj wyniku barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym		
			Zespół badawczy 1	Zespół badawczy 2	Zespół badawczy 3
Linia komórkowa T-24	270	Wynik ujemny	100.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	270	Wynik ujemny	95.6%	91.1%	95.6%
NILM/HPV+	90	Wynik dodatni	70.0%	63.3%	50.0%
ASC-US/HPV+	90	Wynik dodatni	100.0%	90.0%	90.0%
LSIL/HPV+	90	Wynik dodatni	100.0%	100.0%	100.0%
HSIL/HPV+	270	Wynik dodatni	98.9%	98.9%	98.9%

Odtwarzalność

Przeprowadzono badania odtwarzalności dla zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w celu określenia:

- odtwarzalności wyników między partiami zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (Tab. 9);

- odtwarzalności wyników w cyklu barwienia (Tab. 10) i między cyklami barwienia (Tab. 11) w aparatach BenchMark GX, XT i ULTRA;
- odtwarzalności wyników w obrębie platformy w aparatach BenchMark GX, XT i ULTRA (Tab. 12);
- odtwarzalności wyników między platformami w aparatach BenchMark GX, XT i ULTRA (Tab. 13).

Tab. 9. Odtwarzalność wyników między partiami zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

Typ próbki	Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tab. 10. Odtwarzalność wyników w cyklu barwienia dla zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

Typ próbki	Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tab. 11. Odtwarzalność wyników między cyklami barwienia dla zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

Typ próbki	Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Tab. 12. Odtwarzalność wyników w obrębie platformy dla zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

Typ próbki	Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tab. 13. Odtwarzalność wyników między platformami dla zestawu CINtec PLUS Cytology Kit.

Typ próbki	Procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Badania te przeprowadzono na próbkach z szyjki macicy ThinPrep oraz SurePath. Wyniki wszystkich badań spełniły określone kryteria akceptacji.

Badania zgodności

Skuteczność zestawu CINtec PLUS Cytology Kit przeznaczonego do użytku w aparatach BenchMark GX, XT i ULTRA oceniono poprzez porównanie wyników uzyskanych za pomocą tego zestawu z wynikami uzyskanymi za pomocą zestawu CINtec PLUS Kit (wyrób porównawczy dopuszczony do obrotu (predicate device), Roche mtm laboratories AG, Mannheim), który w wykonanych wcześniej badaniach wykazywał wysoką czułość i swoistość pod względem detekcji stanów przedrakowych i rakowych w próbkach cytologicznych z szyjki macicy w oparciu o obecność pojedynczych komórek nabłonkowych szyjki macicy z dodatnim wynikiem barwienia podwójnego pod kątem białek p16^{INK4a} i Ki-67. 7–15,18,20,23,25–28

Badania zgodności przeprowadzono przy użyciu próbek pacjentek należących do populacji zgodnej z zamiarem zastosowania z wynikami badania cytologicznego NILM (brak zmian śródnabłonkowych oraz złośliwych), ASC-US, LSIL i HSIL uzyskanymi dla preparatów przygotowanych przy użyciu każdej z metod przygotowania preparatu cytologicznego z szyjki macicy. Zastosowano preparaty ThinPrep, preparaty BD SurePath oraz preparaty wymazów wykonywane metodą konwencjonalną. W przypadku próbek LBC z każdej próbki pacjentki przygotowywano po dwa preparaty. W przypadku wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną przygotowywano dwa preparaty z pojedynczej próbki pacjenta pobranej podczas jednej wizyty, rozdzielając materiał z próbki pomiędzy dwa preparaty („metoda próbki podzielonej”). Jeden preparat był badany przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w aparacie BenchMark IHC/ISH, a drugi barwiono przy użyciu wyrobu porównawczego dopuszczonego do obrotu (predicate device).

Algorytm odczytu dla próbek LBC:

Odczytu każdego preparatu dokonywało dwóch wykwalifikowanych badaczy. Jeśli badacze zgadzali się co do wyniku, uznawano, że jest to ostateczny wynik dla ocenianego preparatu. Jeśli badacze nie zgadzali się co do wyniku, trzeci badacz dokonywał rozstrzygającego odczytu. Wynik większości był uznawany za ostateczny wynik dla ocenianego preparatu.

Algorytm odczytu dla preparatów wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną:

Odczytu każdego preparatu dokonywało dwóch wykwalifikowanych badaczy. Ostateczny wynik dla ocenianego preparatu był dodatni, jeśli dwóch badaczy oceniło ten preparat jako dodatni. Jeśli badacze nie zgadzali się co do wyniku, preparat był oceniany przez składający się z trzech badaczy panel ekspertów w celu uzgodnienia oceny, którą uznawano za ostateczny wynik dla tego preparatu. Jeśli dwóch badaczy oceniło preparat jako ujemny, trzeci badacz dokonywał odczytu preparatu w celu potwierdzenia wyniku ujemnego. Jeśli trzeci badacz potwierdził wynik ujemny, uznawano, że ostateczny wynik dla tego preparatu jest ujemny. Jeśli trzeci badacz ocenił preparat jako dodatni, preparat ten był następnie oceniany przez panel ekspertów w celu uzgodnienia oceny, którą uznawano za ostateczny wynik dla tego preparatu.

Zgodność wyników testów jest zgłaszana jako procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) i procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) wraz z zakresami ± 95 -procentowego przedziału ufności (CI) — porównaniem objęto wyniki uzyskane za pomocą zestawu CINtec PLUS Cytology Kit przeznaczonego do użycia w aparacie BenchMark IHC/ISH oraz wyniki uzyskane za pomocą wyrobu porównawczego dopuszczonego do obrotu (predicate device).

Tab. 14. Zgodność wyników testów między zestawem CINtec PLUS Cytology Kit a wyrobem porównawczym dopuszczonym do obrotu (predicate device) używanymi z preparatami cytologicznymi z szyjki macicy ThinPrep.

		Wyrób porównawczy dopuszczony do obrotu	
		+	-
Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
Łącznie		157	172
PPA (n/N) (95-procentowy CI) = $140/157 \times 100\% = 89.2\%$ (83.3–93.1%)			
NPA (n/N) (95-procentowy CI) = $147/172 \times 100\% = 85.5\%$ (79.4–90.0%)			

Tab. 15. Zgodność wyników testów między zestawem CINtec PLUS Cytology Kit a wyrobem porównawczym dopuszczonym do obrotu (predicate device) używanymi z preparatami cytologicznymi z szyjki macicy SurePath.

		Wyrób porównawczy dopuszczony do obrotu	
		+	-
Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
Łącznie		65	111
PPA (n/N) (95-procentowy CI) = $56/65 \times 100\% = 86.2\%$ (75.7–92.5%)			
NPA (n/N) (95-procentowy CI) = $108/111 \times 100\% = 97.3\%$ (92.4–99.1%)			

Tab. 16. Zgodność wyników testów między zestawem CINtec PLUS Cytology Kit a wyrobem porównawczym dopuszczonym do obrotu (predicate device) używanymi z preparatami cytologicznymi z wymazów z szyjki macicy wykonywanych metodą konwencjonalną.

		Wyrób porównawczy dopuszczony do obrotu	
		+	-
Zestaw CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
Łącznie		118	89
PPA (n/N) (95-procentowy CI) = $98/118 \times 100\% = 83.1\%$ (75.3–88.8%)			
NPA (n/N) (95-procentowy CI) = $72/89 \times 100\% = 80.9\%$ (71.5–87.7%) 99.1%)			

Badanie podłoża Roche Cell Collection Medium

Działanie podłoża Roche Cell Collection Medium w porównaniu z roztworem PreservCyt oceniono, wybarwiając 616 par próbek z szyjki macicy (przypadki) przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit. Dla każdego przypadku przygotowano po jednym preparacie, wykorzystując odpowiednio fiołki z podłożem PC lub RCCM. Odczytu wszystkich preparatów dokonywał zespół składający się z cytotechnologa i patomorfologa, nieznanego pochodzenia preparatów. Wyniki testów przeprowadzonych z użyciem zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w celu porównania podłoża (PC i RCCM) podsumowano w Tab. 17. Współczynniki wyników dodatnich zostały obliczone poprzez podział liczby przypadków dodatnich przez całkowitą liczbę adekwatnych przypadków uzyskanych dla każdego podłoża. Wyniki wykazują różnicę między dwoma współczynnikami wyników dodatnich na poziomie 2.4% (1.5, 6.3).

Tab. 17. Równoważność współczynników wyników dodatnich uzyskanych za pomocą zestawu CINtec PLUS Cytology Kit dla próbek w podłożach Roche Cell Collection Medium (RCCM) i PreservCyt (PC).

Wynik uzyskany za pomocą zestawu CINtec PLUS Cytology Kit dla próbki w podłożu RCCM	Wynik uzyskany za pomocą zestawu CINtec PLUS Cytology Kit dla próbki w podłożu PC		
	Wynik dodatni	Wynik ujemny	Łącznie
Wynik dodatni	170	48	218
Wynik ujemny	37	204	241
Łącznie	207	252	459
Współczynnik wyników dodatnich dla próbek w podłożu RCCM, n/N (%):	218/459 (47.5%)		
Współczynnik wyników dodatnich dla próbek w podłożu PC, n/N (%):	207/459 (45.1%)		
Różnica współczynników wyników dodatnich, n/N (%):	11/459 (2.4%; 95-procentowy CI: -1.5, 6.3)		

Porównanie adekwatności komórek z podłoża PreservCyt i Roche Cell Collection Medium na podstawie wyników barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit zostało przedstawione w Tab. 18. Współczynniki adekwatności komórek zostały obliczone poprzez podział liczby przypadków o adekwatnych komórkach przez całkowitą liczbę adekwatnych przypadków uzyskanych dla każdego podłoża. Wyniki wykazują różnicę między dwoma współczynnikami adekwatności komórek na poziomie 3.2% (-0.0, 6.6).

Tab. 18. Porównanie adekwatności komórek z podłoża Roche Cell Collection Medium (RCCM) i PreservCyt (PC) na podstawie wyników barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit.

Adekwatność komórek z podłoża RCCM na podstawie wyników barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit	Adekwatność komórek z podłoża PC na podstawie wyników barwienia zestawem CINtec PLUS Cytology Kit		
	Tak	Nie	Łącznie
Tak	468	63	531
Nie	43	42	85
Łącznie	511	105	616
Współczynnik adekwatności komórek z podłoża RCCM, n/N (%):	531/616 (86.2%)		
Współczynnik adekwatności komórek z podłoża PC, n/N (%):	511/616 (83.0%)		
Różnica współczynników adekwatności, n/N (%):	20/616 (3.2%; 95-procentowy CI: -0.0, 6.6)		

Badanie odtwarzalności międzylaboratoryjnej w platformie do barwienia BenchMark ULTRA PLUS

Badanie odtwarzalności zostało przeprowadzone w celu oceny testu CINtec PLUS Cytology używanego w aparacie BenchMark ULTRA PLUS pod kątem podwójnej immunocytochemicznej detekcji białek p16^{INK4a} i Ki-67 w próbkach cytologicznych. Badanie obejmowało 2 różne hodowle komórek T24 oraz 10 próbek zbiorczych pochodzących od pacjentek (próbki LBC: 2 próbki zbiorcze HSIL/HPV+, 2 próbki zbiorcze LSIL/HPV+, 2 próbki zbiorcze ASC-US/HPV+, 2 próbki zbiorcze NILM/HPV+ oraz 2 próbki zbiorcze NILM/HPV-). Hodowle komórek T24 przygotowano przy użyciu materiału z pojedynczego działającego banku komórek. Do każdego z trzech ośrodków dostarczono

porcje poszczególnych próbek zbiorczych, hodowli komórek T24 i zbiorczych próbek kontrolnych w ilościach wystarczających do przeprowadzenia badań zaplanowanych w danym ośrodku. W każdym z pięciu dni barwienia z poszczególnych porcji próbek dostarczonych przez firmę RTD w ośrodkach przygotowywano preparaty testowe przy użyciu aparatu do przygotowywania preparatów ThinPrep 2000 lub ThinPrep 5000. Po przygotowaniu preparatów w każdym ośrodku wybierano jeden zestaw 13 preparatów w aparacie BenchMark ULTRA PLUS. Dni, w których wykonywano barwienie (5 dni barwienia), nie następowały bezpośrednio po sobie i rozciągały się na okres co najmniej 20 dni. W każdym ośrodku 2 zespoły badawcze, każdy składający się z cytotechnologa i patomorfologa, niezależnie oceniły preparaty wybarwione w odpowiadającym im ośrodku pod kątem obecności lub braku podwójnego barwienia oraz przypisały każdemu preparatowi dodatni, ujemny lub niezadowolający wynik testu CINtec PLUS Cytology. Badacze z zespołów nie znali żadnych wcześniejszych statusów wirusa HPV, statusów badania cytologicznego i wyników testów CINtec PLUS Cytology oraz nie otrzymali żadnych innych informacji klinicznych.

Dane zostały bezpośrednio wprowadzone do bazy danych klinicznych i przeanalizowane w celu określenia odtwarzalności testu w różnych ośrodkach i dniach oraz w przypadku różnych zespołów badawczych. Wskaźniki dopuszczalności tła i komórek wynosiły 100% dla wszystkich przypadków i wszystkich aparatów. Podsumowanie wyników zawiera Tab. 19 i Tab. 20.

Tab. 19. Badanie odtwarzalności międzylaboratoryjnej w aparacie BenchMark ULTRA PLUS — odtwarzalność między ośrodkami

Kategoria próbki zbiorczej	Liczba ocen	Rodzaj wyniku barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym		
			Ośrodek A	Ośrodek B	Ośrodek C
Linia komórkowa T24	60	Wynik ujemny	95.0%	100.0%	100.0%
NILM/HPV-	60	Wynik ujemny	100.0%	95.0%	100.0%
NILM/HPV+	60	Wynik dodatni	90.0%	80.0%	95.0%
ASC-US/HPV+	60	Wynik dodatni	100.0%	95.0%	100.0%
LSIL/HPV+	60	Wynik dodatni	100.0%	95.0%	100.0%
HSIL/HPV+	60	Wynik dodatni	100.0%	100.0%	100.0%

Tab. 20. Badanie odtwarzalności międzylaboratoryjnej w aparacie BenchMark ULTRA PLUS — precyzja wszystkich wyników ogółem

Kategoria próbki zbiorczej	Rodzaj wyniku barwienia przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology (wynik dominujący)	Odsetek wyników identycznych z wynikiem dominującym	n/N	95-procentowe przedziały ufności
Linia komórkowa T24	Wynik ujemny	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV-	Wynik ujemny	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
NILM/HPV+	Wynik dodatni	88.3%	53/60	(86.7, 90.0)
ASC-US/HPV+	Wynik dodatni	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
LSIL/HPV+	Wynik dodatni	98.3%	59/60	(96.7, 100.0)
HSIL/HPV+	Wynik dodatni	100.0%	60/60	(94.0, 100.0)

Zgodność między aparatami BenchMark ULTRA PLUS i BenchMark ULTRA (próbki ThinPrep)

W badaniu zgodności między aparatami BenchMark ULTRA PLUS i BenchMark ULTRA wzięły udział trzy laboratoria. W badaniu wykorzystano próbki ThinPrep przygotowane metodą LBC z materiału pobranego z szyjki macicy w firmie Roche Tissue Diagnostics (RTD). Z próbek usunięto dane identyfikacyjne i utworzono z nich 220 próbek zbiorczych, podzielonych na następujące kategorie: 88 zbiorczych próbek dodatnich, 22 zbiorcze próbki granicznie dodatnie, 22 zbiorcze próbki pośrednio ujemne i 88 zbiorczych próbek ujemnych z hodowli komórek T24. Z każdej próbki w firmie RTD przy użyciu aparatu do przygotowywania preparatów ThinPrep 2000 lub ThinPrep 5000 przygotowano zestaw składający się z 4 preparatów. Pierwszy przygotowany preparat z każdego zestawu był barwiony w aparacie BenchMark ULTRA w firmie RTD. Po jednym z pozostałych 3 preparatów przekazywano do każdego ośrodka badawczego w celu wybarwienia przy użyciu testu CINtec PLUS Cytology w aparacie BenchMark ULTRA PLUS. W firmie RTD zespół badawczy firmy RTD, składający się z cytotechnologa i patomorfologa, ocenił preparat wybarwiony w aparacie BenchMark ULTRA pod kątem obecności lub braku podwójnego barwienia oraz przypisywał mu dodatni, ujemny lub niezadowolający wynik w celu ustalenia wyniku referencyjnego. W każdym ośrodku badawczym zespół badaczy niezależnie ocenił preparaty wybarwione w aparacie BenchMark ULTRA pod kątem wyników testu CINtec PLUS Cytology. Preparaty wybarwione w aparacie BenchMark ULTRA PLUS w każdym ośrodku były oceniane przez zespół badawczy danego ośrodka pod kątem wyników testu CINtec PLUS Cytology. W ten sposób zespół badawczy z każdego ośrodka ocenił po jednym preparacie wybarwionym w aparacie BenchMark ULTRA i po jednym preparacie wybarwionym w aparacie BenchMark ULTRA PLUS dla każdej próbki. Oceny preparatów wybarwionych w aparatach BenchMark ULTRA i BenchMark ULTRA PLUS dzielił dwutygodniowy odstęp. Badacze z wszystkich zespołów nie znali żadnych wcześniejszych statusów wirusa HPV, statusów badania cytologicznego i wyników testów CINtec PLUS Cytology oraz nie otrzymali żadnych innych informacji klinicznych.

Równoważność skuteczności testu CINtec PLUS Cytology uznawano za akceptowalną dla aparatu BenchMark ULTRA PLUS, jeśli dolna granica 95-procentowego dwustronnego przedziału ufności dla wartości PPA i NPA wynosiła co najmniej 85%. Aby badanie zostało uznane za zakończone powodzeniem, wskaźnik dopuszczalności tła i komórek preparatów testowych wybarwionych przy użyciu testu CINtec PLUS Cytology w aparacie BenchMark ULTRA PLUS musiał być dopuszczalny dla $\geq 90\%$ preparatów testowych. Wskaźniki dopuszczalności tła i komórek dla wszystkich preparatów testowych wynosiły odpowiednio 99.7% i 99.4%. Procentowe wartości zgodności statusów testów CINtec PLUS Cytology między aparatami BenchMark ULTRA i BenchMark ULTRA PLUS przedstawiono w Tab. 21 poniżej.

Tab. 21. Badanie zgodności między aparatami BenchMark ULTRA i BenchMark ULTRA PLUS — zbiorcza analiza zgodności statusów testów CINtec PLUS Cytology między platformami (ThinPrep)

Status testu CINtec PLUS Cytology				Zgodność		
BenchMark ULTRA PLUS	BenchMark ULTRA			Współczynnik	% (n/N)	95-procentowy CI
	Wynik dodatni	Wynik ujemny	Łącznie			
Wynik dodatni	314	13	327	PPA	95.7 (314/328)	(92.8, 98.1)
Wynik ujemny	14	317	331	NPA	96.1 (317/330)	(93.5, 98.1)
Łącznie	328	330	658	OPA	95.9 (631/658)	(94.1, 97.4)

Uwaga: Zbiorcza analiza zgodności obejmuje wszystkie próbki i wszystkie zespoły badawcze związane z aparatem ULTRA PLUS.

Uwaga: PPA = procentowa zgodność wyników dodatnich; NPA = procentowa zgodność wyników ujemnych; OPA = procentowa zgodność wszystkich wyników ogółem.

Badanie odtwarzalności w ramach laboratorium w platformie do barwienia BenchMark ULTRA PLUS

Badanie odtwarzalności w ramach laboratorium zostało przeprowadzone w celu oceny powtarzalności w ramach cyklu, precyzji pośredniej między dniami i precyzji pośredniej między aparatami dla testu CINtec PLUS Cytology używanego do barwienia próbek SurePath. Badanie obejmowało 2 różne hodowle komórek T24 oraz 9 próbek zbiorczych SurePath pochodzących od pacjentek (3 próbki CINtec-dodatnie/HPV+, 3 próbki graniczne i 3 próbki CINtec-ujemne/HPV-). Preparaty przygotowywano w aparacie do przygotowywania preparatów BD Totalys w każdym z pięciu dni barwienia, które nie następowały bezpośrednio po sobie i rozciągały się na okres co najmniej 20 dni. W celu oceny odtwarzalności między aparatami użyto trzech aparatów BenchMark ULTRA PLUS. Preparaty testowe były oceniane przez zespół badawczy, składający się z cytotechnologa i patomorfologa przeszkolonych w zakresie oceny wyników testu CINtec PLUS Cytology. Zgodność preparatów testowych oceniano poprzez porównywanie statusu wyniku testu CINtec PLUS Cytology dla preparatu testowego z rodzajem wyniku (statusem modalnym) uzyskiwanym na poziomie próbki zbiorczej (PLM), który definiowano jako najczęstszy wynik wśród wszystkich ocen z agregowanych danych danej próbki zbiorczej dla wszystkich aparatów, dni i powtórzeń. Wskaźniki dopuszczalności tła i komórek dla wszystkich preparatów testowych wynosiły odpowiednio 99.4% i 99.7%. Podsumowanie wyników zawiera Tab. 22, Tab. 23, Tab. 24 i Tab. 25 poniżej.

Tab. 22. Badanie precyzji w ramach laboratorium — precyzja wszystkich wyników ogółem dla prawdziwie dodatnich i prawdziwie ujemnych próbek SurePath

Status modalny na poziomie próbki zbiorczej				Zgodność		
Status testu CINtec PLUS	Wynik dodatni	Wynik ujemny	Łącznie	Pomiar	% (n/N)	95-procentowy CI
Wynik dodatni	89	0	89	PPA	100.0 (89/89)	(95.9, 100.0)
Wynik ujemny	0	90	90	NPA	100.0 (90/90)	(95.9, 100.0)
Łącznie	89	90	179	OPA	100.0 (179/179)	(97.9, 100.0)

Tab. 23. Badanie precyzji w ramach laboratorium — precyzja pośrednia między dniami

Dzień	Wynik zgodny z PLM, n (%)	Wynik niezgodny z PLM, n (%)	Łącznie, n (%)
Dzień 1	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dzień 2	35 (100.0)	0 (0.0)	35 (100.0)
Dzień 3	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dzień 4	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)
Dzień 5	36 (100.0)	0 (0.0)	36 (100.0)

Tab. 24. Badanie precyzji w ramach laboratorium — powtarzalność w ramach cyklu

Powtórzenie	Wynik zgodny z PLM, n (%)	Wynik niezgodny z PLM, n (%)	Łącznie, n (%)
Powtórzenie 1	90 (100.0)	0 (0.0)	90 (100.0)
Powtórzenie 2	89 (100.0)	0 (0.0)	89 (100.0)

Tab. 25. Badanie precyzji w ramach laboratorium — precyzja pośrednia między aparatami

Aparat	Wynik zgodny z PLM, n (%)	Wynik niezgodny z PLM, n (%)	Łącznie, n (%)
Aparat 1	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Aparat 2	60 (100.0)	0 (0.0)	60 (100.0)
Aparat 3	59 (100.0)	0 (0.0)	59 (100.0)

Zgodność między platformami do barwienia BenchMark ULTRA PLUS i BenchMark ULTRA (próbki SurePath)

Wewnętrzne badanie zgodności zostało przeprowadzone w celu sprawdzenia równoważności skuteczności barwienia próbek SurePath przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology między platformami do barwienia BenchMark ULTRA i ULTRA PLUS. Badanie obejmowało 88 prawdziwie dodatnich, 26 granicznie dodatnich, 26 pośrednio ujemnych i 88 prawdziwie ujemnych hodowli z linii komórkowych T24. Z każdej próbki przygotowano po dwa preparaty testowe przy użyciu aparatu do przygotowywania preparatów BD Totalys, które następnie były wybarwiane przy użyciu testu CINtec PLUS Cytology w aparacie BenchMark ULTRA albo aparacie BenchMark ULTRA PLUS. Preparaty testowe były oceniane przez zespół badawczy, składający się z cytotechnologa i patomorfologa przeszkolonych w zakresie oceny wyników testu CINtec PLUS Cytology. Równoważność skuteczności testu CINtec PLUS Cytology uznawano za akceptowalną dla aparatu BenchMark ULTRA PLUS, jeśli dolna granica 95-procentowego dwustronnego przedziału ufności dla wartości PPA i NPA wynosiła co najmniej 85%. Aby badanie zostało uznane za zakończone powodzeniem, wskaźnik dopuszczalności tła i komórek preparatów testowych wybarwionych przy użyciu testu CINtec PLUS Cytology w aparacie BenchMark ULTRA PLUS musiał być dopuszczalny dla $\geq 90\%$ preparatów testowych. Wskaźniki dopuszczalności tła i komórek dla wszystkich preparatów testowych wynosiły odpowiednio 99.6% i 99.1%. Podsumowanie wyników zawiera Tab. 26 poniżej.

Tab. 26. Badanie zgodności między aparatami BenchMark ULTRA i BenchMark ULTRA PLUS (SurePath)

Status ULTRA				Zgodność		
Status ULTRA PLUS	Wynik dodatni	Wynik ujemny	Łącznie	Pomiar	% (n/N)	95-procentowy CI
Wynik dodatni	94	2	96	PPA	92.2 (94/102)	(85.3, 96.0)
Wynik ujemny	8	119	127	NPA	98.3 (119/121)	(94.2, 99.5)
Łącznie	102	121	223	OPA	95.5 (213/223)	(91.9, 97.5)

SKUTECZNOŚĆ KLINICZNA

Zaprojektowano prospektywne, wieloośrodkowe badanie (IMPACT, IMProved Primary screening And Colposcopy Triage), którego celem była ocena skuteczności klinicznej zestawu CINtec PLUS Cytology Kit używanego w aparacie BenchMark ULTRA z wykorzystaniem klinicznie zebranych próbek szyjki macicy w roztworze PreservCyt® pod kątem identyfikacji zmian szyjki macicy dużego stopnia. Badanie zaprojektowano w celu oceny skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit jako testu dodatkowego wykonywanego wśród kobiet w wieku ≥ 25 lat, u których przy użyciu testu cobas® 4800 HPV Test lub cobas® 6800/8800 HPV Test uzyskano dodatni wynik względem wirusa HPV. Dane z tego badania potwierdzają przydatność testu CINtec PLUS Cytology Kit używanego pomocniczo do identyfikacji kobiet ze zmianami śródnaobłonkowymi szyjki macicy wysokiego stopnia spośród pacjentek z dodatnimi wynikami testu pod kątem wirusa HR-HPV.

Charakterystyka wyników testu CINtec PLUS Cytology Kit w porównaniu z badaniem cytologicznym wśród kobiet w wieku 25–65 lat z dodatnim wynikiem testu cobas® 6800/8800 HPV Test lub cobas® 4800 HPV Test

Wyniki porównania skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit i badania cytologicznego wśród kobiet z dodatnim wynikiem testu cobas® 6800/8800 HPV Test i cobas® 4800 HPV Test przedstawiono w tabelach poniżej. W Tab. 27 przedstawiono wyniki uzyskane dla populacji 12 typów HR HPV+, Tab. 28 dla populacji HPV16+, a Tab. 29 dla populacji HPV18+. W trzech grupach genotypów zaobserwowano wzrost czułości i spadek swoistości zestawu CINtec PLUS Cytology Kit w porównaniu do badania cytologicznego podczas detekcji zmian szyjki macicy dużego stopnia (Tab. 27, Tab. 28 i Tab. 29).

Zarówno w przypadku kobiet z dodatnim wynikiem testu cobas® 6800/8800 HPV Test, jak i testu cobas® 4800 HPV Test, maksymalny wzrost czułości (różnica = odpowiednio 23.1% i 24.2%) oraz minimalny spadek swoistości (różnica = odpowiednio 7.9% i 8.7%) w odniesieniu do badania cytologicznego zaobserwowano dla populacji 12 typów HR HPV+ (Tab. 27).

We wszystkich przypadkach ujemny wynik testu CINtec PLUS Cytology Kit był jednoznaczny ze znacznie niższym ryzykiem wystąpienia choroby przy porównaniu wyników testu CINtec PLUS Cytology Kit z wynikami NILM badania cytologicznego. Wśród kobiet, które uzyskały dodatni wynik w testu cobas® 6800/8800 HPV Test, wartość 1-NPV była niższa o odpowiednio 3.7%, 6.1% i 1.2% w przypadku zmian $\geq$ CIN2 oraz 0.9%, 3.3% i 0.3% w przypadku zmian $\geq$ CIN3 dla populacji 12 typów HR HPV+, populacji HPV16+ i populacji HPV18+. Wśród kobiet, które uzyskały dodatni wynik w testu cobas® 4800 HPV Test, wartość 1-NPV była niższa o odpowiednio 3.4%, 9.1% i 3.3% w przypadku zmian $\geq$ CIN2 oraz 0.8%, 5.1% i 0.5% w przypadku zmian $\geq$ CIN3 dla populacji 12 typów HR HPV+, populacji HPV16+ i populacji HPV18+.

Tab. 27. Porównanie skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit i badania cytologicznego wśród kobiet w wieku 25–65 lat z populacji 12 typów HR HPV+.

cobas® 6800/8800 system, 12 typów HR HPV+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Swoistość (%)	56.8 (1373/2416) (54.8, 58.8)	65.5 (1583/2416) (63.6, 67.4)	-8.7 (-10.9, -6.4)
PPV (%)	19.6 (254/1297) (18.5, 20.6)	17.8 (180/1013) (16.2, 19.3)	1.8 (0.0, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (52/1425) (2.9, 4.6)	7.4 (126/1709) (6.5, 8.3)	-3.7 (-4.5, -2.4)
Chorobowość (%)	11.2 (306/2722)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Swoistość (%)	53.7 (1412/2629) (51.8, 55.6)	63.8 (1678/2629) (62.0, 65.6)	-10.1 (-12.3, -8.0)
PPV (%)	6.2 (80/1297) (5.6, 6.6)	6.1 (62/1013) (5.2, 6.9)	0.0 (-0.8, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (13/1425) (0.5, 1.5)	1.8 (31/1709) (1.3, 2.4)	-0.9 (-1.4, -0.3)
Chorobowość (%)	3.4 (93/2722)		
cobas® 4800 system, 12 typów HR HPV+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Swoistość (%)	58.6 (1520/2594) (56.7, 60.5)	66.5 (1726/2594) (64.7, 68.3)	-7.9 (-10.1, -5.8)
PPV (%)	19.2 (256/1330) (18.1, 20.3)	17.5 (184/1052) (15.9, 19.0)	1.8 (0.2, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (56/1576) (2.8, 4.4)	6.9 (128/1854) (6.0, 7.8)	-3.4 (-4.4, -2.3)
Chorobowość (%)	10.7 (312/2906)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Swoistość (%)	55.6 (1563/2812) (53.7, 57.4)	64.8 (1823/2812) (63.0, 66.6)	-9.2 (-11.3, -7.2)
PPV (%)	6.1 (81/1330) (5.5, 6.5)	6.0 (63/1052) (5.1, 6.8)	0.1 (-0.7, 0.9)
1-NPV (%)	0.8 (13/1576) (0.5, 1.3)	1.7 (31/1854) (1.2, 2.2)	-0.8 (-1.3, -0.3)
Chorobowość (%)	3.2 (94/2906)		
Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.			

Tab. 28. Porównanie skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit i badania cytologicznego wśród kobiet w wieku 25–65 lat z populacji HPV16+.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Swoistość (%)	57.2 (349/610) (53.3, 61.1)	68.5 (418/610) (64.7, 72.1)	-11.3 (-15.4, -7.2)
PPV (%)	40.3 (176/437) (37.9, 42.7)	42.9 (144/336) (39.4, 46.3)	-2.6 (-5.7, 0.8)
1-NPV (%)	3.9 (14/363) (2.3, 6.2)	9.9 (46/464) (7.8, 12.3)	-6.1 (-7.1, -2.6)
Chorobowość (%)	23.8 (190/800)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Swoistość (%)	52.1 (354/680) (48.3, 55.8)	64.3 (437/680) (60.6, 67.8)	-12.2 (-16.0, -8.3)
PPV (%)	25.4 (111/437) (23.6, 27.2)	27.7 (93/336) (24.8, 30.5)	-2.3 (-4.7, 0.3)
1-NPV (%)	2.5 (9/363) (1.3, 4.4)	5.8 (27/464) (4.2, 7.8)	-3.3 (-4.7, -1.1)
Chorobowość (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Swoistość (%)	44.8 (182/406) (40.1, 49.7)	60.1 (244/406) (55.3, 64.7)	-15.3 (-20.6, -9.8)
PPV (%)	44.0 (176/400) (41.7, 46.4)	47.1 (144/306) (43.5, 50.6)	-3.1 (-6.6, 0.5)
1-NPV (%)	6.2 (12/194) (3.6, 10.2)	15.3 (44/288) (12.0, 19.0)	-9.1 (-13.4, -4.8)
Chorobowość (%)	31.6 (188/594)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Swoistość (%)	39.2 (187/477) (34.9, 43.7)	55.1 (263/477) (50.6, 59.5)	-15.9 (-20.7, -11.0)
PPV (%)	27.5 (110/400) (25.7, 29.2)	30.1 (92/306) (27.1, 32.9)	-2.6 (-5.4, 0.2)
1-NPV (%)	3.6 (7/194) (1.8, 7.0)	8.7 (25/288) (6.2, 11.8)	-5.1 (-8.3, -1.7)
Chorobowość (%)	19.7 (117/594)		
Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.			

Tab. 29. Porównanie skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit i badania cytologicznego wśród kobiet w wieku 25–65 lat z populacji HPV18+.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Swoistość (%)	62.7 (205/327) (57.3, 67.8)	73.1 (239/327) (68.0, 77.6)	-10.4 (-16.1, -4.6)
PPV (%)	20.3 (31/153) (16.8, 23.4)	23.5 (27/115) (18.6, 28.2)	-3.2 (-8.2, 1.8)
1-NPV (%)	2.8 (6/211) (1.4, 5.4)	4.0 (10/249) (2.3, 6.3)	-1.2 (-3.6, 1.3)
Chorobowość (%)	10.2 (37/364)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Swoistość (%)	60.1 (209/348) (54.8, 65.1)	70.7 (246/348) (65.7, 75.2)	-10.6 (-16.1, -5.0)
PPV (%)	9.2 (14/153) (6.7, 10.8)	11.3 (13/115) (8.0, 13.9)	-2.2 (-5.2, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (2/211) (0.3, 2.7)	1.2 (3/249) (0.4, 2.7)	-0.3 (-1.7, 1.1)
Chorobowość (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Swoistość (%)	53.4 (102/191) (46.3, 60.3)	62.3 (119/191) (55.3, 68.9)	-8.9 (-16.6, -1.0)
PPV (%)	23.9 (28/117) (19.9, 27.6)	24.2 (23/95) (18.8, 29.3)	-0.3 (-5.8, 5.3)
1-NPV (%)	3.8 (4/106) (1.5, 8.2)	7.0 (9/128) (4.0, 11.0)	-3.3 (-8.1, 1.3)
Chorobowość (%)	14.3 (32/223)		
Skuteczność Pomiar	Diagnoza CPR ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Badanie cytologiczne	Różnica
Czułość (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Swoistość (%)	50.0 (104/208) (43.3, 56.7)	60.1 (125/208) (53.3, 66.5)	-10.1 (-17.5, -2.5)
PPV (%)	11.1 (13/117) (8.1, 13.2)	12.6 (12/95) (8.8, 15.6)	-1.5 (-5.1, 2.0)
1-NPV (%)	1.9 (2/106) (0.5, 5.2)	2.3 (3/128) (0.8, 5.2)	-0.5 (-3.4, 2.3)
Chorobowość (%)	6.7 (15/223)		
Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.			

Charakterystyka wyników w populacji kobiet z dodatnimi wynikami testów cobas® 6800/8800 HPV Test lub cobas® 4800 HPV Test; kobiety w wieku 30–65 lat z wynikami badania cytologicznego NILM

Dane dotyczące skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit podczas detekcji zmian ≥ CIN2 i ≥ CIN3 w próbkach pobranych od kobiet z populacji 12 typów HR HPV+ z wynikiem badania cytologicznego NILM przedstawiono w Tab. 30.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 6800/8800 system, z wynikiem względem 12 typów HR HPV+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian ≥ CIN2 wynosiły odpowiednio 66.7% i 69.7% (odpowiednio 62.5% i 67.8% w przypadku zmian ≥ CIN3). Wartości PPV w tej grupie wynosiły 13.0% dla zmian ≥ CIN2 i 2.6% dla zmian ≥ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło 3.1% dla zmian ≥ CIN2 i 0.8% dla zmian ≥ CIN3.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 4800 system, z wynikiem względem 12 typów HR HPV+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian ≥ CIN2 wynosiły odpowiednio 64.9% i 71.0% (odpowiednio 66.7% i 69.4% w przypadku zmian ≥ CIN3). Wartości PPV w tej grupie wynosiły 12.0% dla zmian ≥ CIN2 i 2.5% dla zmian ≥ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło 2.9% dla zmian ≥ CIN2 i 0.6% dla zmian ≥ CIN3.

Tab. 30. Skuteczność zestawu CINtec PLUS Cytology Kit wśród kobiet w wieku 30–65 lat z populacji 12 typów HR HPV+ i z wynikiem badania cytologicznego NILM.

Miara skuteczności	cobas® 6800/8800 system, 12 typów HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, 12 typów HR HPV+/NILM	
	Diagnoza CPR ≥ CIN2	Diagnoza CPR ≥ CIN3	Diagnoza CPR ≥ CIN2	Diagnoza CPR ≥ CIN3
Czułość (%)	66.7 (50/75) (55.4, 76.3)	62.5 (10/16) (38.6, 81.5)	64.9 (48/74) (53.5, 74.8)	66.7 (10/15) (41.7, 84.8)
Swoistość (%)	69.7 (772/1108) (66.9, 72.3)	67.8 (791/1167) (65.0, 70.4)	71.0 (864/1217) (68.4, 73.5)	69.4 (885/1276) (66.8, 71.8)
Chorobowość (%)	6.3 (75/1183)	1.4 (16/1183)	5.7 (74/1291)	1.2 (15/1291)
PPV (%)	13.0 (50/386) (10.8, 14.9)	2.6 (10/386) (1.6, 3.4)	12.0 (48/401) (9.9, 13.9)	2.5 (10/401) (1.6, 3.2)
NPV (%)	96.9 (772/797) (95.8, 97.8)	99.2 (791/797) (98.8, 99.6)	97.1 (864/890) (96.2, 97.9)	99.4 (885/890) (99.0, 99.7)
1-NPV (%)	3.1 (25/797) (2.2, 4.2)	0.8 (6/797) (0.4, 1.2)	2.9 (26/890) (2.1, 3.8)	0.6 (5/890) (0.3, 1.0)
PLR	2.20 (1.79, 2.59)	1.94 (1.19, 2.58)	2.24 (1.81, 2.65)	2.18 (1.35, 2.82)
NLR	0.48 (0.34, 0.64)	0.55 (0.27, 0.91)	0.49 (0.35, 0.66)	0.48 (0.22, 0.84)
Współczynnik wyników dodatnich (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	
Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; PLR = wskaźnik wiarygodności dodatniego wyniku; NLR = wskaźnik wiarygodności ujemnego wyniku; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.				

Dane dotyczące skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit podczas detekcji zmian ≥ CIN2 i ≥ CIN3 w populacji kobiet z wynikiem HPV16+ i wynikiem badania cytologicznego NILM przedstawiono w Tab. 31.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 6800/8800 system, z wynikiem HPV16+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian ≥ CIN2 wynosiły odpowiednio 76.3% i 72.5% oraz odpowiednio 75.0% i 70.5% w przypadku zmian ≥ CIN3. Wartości PPV w tej grupie wynosiły 23.8% dla zmian ≥ CIN2 i 14.8% dla zmian ≥ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło 3.5% dla zmian ≥ CIN2 i 2.4% dla zmian ≥ CIN3.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 4800 system, z wynikiem HPV16+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian ≥ CIN2 wynosiły odpowiednio 80.6% i 61.7% oraz odpowiednio 81.8% i 59.0% w przypadku zmian ≥ CIN3. Wartości PPV w tej grupie wynosiły 27.9% dla zmian ≥ CIN2 i 17.3% dla zmian ≥ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło 5.5% dla zmian ≥ CIN2 i 3.1% dla zmian ≥ CIN3.

Tab. 31. Skuteczność zestawu CINtec PLUS Cytology Kit wśród kobiet w wieku 30–65 lat z populacji HPV16+ i z wynikiem badania cytologicznego NILM.

Miara skuteczności	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	Diagnoza CPR ≥ CIN2	Diagnoza CPR ≥ CIN3	Diagnoza CPR ≥ CIN2	Diagnoza CPR ≥ CIN3
Czułość (%)	76.3 (29/38) (60.8, 87.0)	75.0 (18/24) (55.1, 88.0)	80.6 (29/36) (65.0, 90.2)	81.8 (18/22) (61.5, 92.7)
Swoistość (%)	72.5 (245/338) (67.5, 77.0)	70.5 (248/352) (65.5, 75.0)	61.7 (121/196) (54.8, 68.3)	59.0 (124/210) (52.3, 65.5)
Chorobowość (%)	10.1 (38/376)	6.4 (24/376)	15.5 (36/232)	9.5 (22/232)
PPV (%)	23.8 (29/122) (19.1, 28.2)	14.8 (18/122) (11.0, 18.1)	27.9 (29/104) (22.8, 32.7)	17.3 (18/104) (13.2, 20.8)
NPV (%)	96.5 (245/254) (94.2, 98.0)	97.6 (248/254) (95.8, 98.9)	94.5 (121/128) (90.5, 97.2)	96.9 (124/128) (93.5, 98.7)
1-NPV (%)	3.5 (9/254) (2.0, 5.8)	2.4 (6/254) (1.1, 4.2)	5.5 (7/128) (2.8, 9.5)	3.1 (4/128) (1.3, 6.5)
PLR	2.77 (2.10, 3.49)	2.54 (1.81, 3.24)	2.11 (1.61, 2.64)	2.00 (1.45, 2.50)
NLR	0.33 (0.18, 0.54)	0.35 (0.17, 0.64)	0.31 (0.16, 0.57)	0.31 (0.12, 0.66)
Współczynnik wyników dodatnich (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	
Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; PLR = wskaźnik wiarygodności dodatniego wyniku; NLR = wskaźnik wiarygodności ujemnego wyniku; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.				

Dane dotyczące skuteczności zestawu CINtec PLUS Cytology Kit podczas detekcji zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3 w populacji kobiet z wynikiem HPV18+ i wynikiem badania cytologicznego NILM przedstawiono w Tab. 32.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 6800/8800 system, z wynikiem HPV18+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian $\geq$ CIN2 wynosiły odpowiednio 75.0% i 73.3% oraz odpowiednio 66.7% i 72.1% w przypadku zmian $\geq$ CIN3. Wartości PPV wynosiły odpowiednio 9.7% i 3.2% dla zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło odpowiednio 1.3% i 0.6% dla zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3.

W populacji kobiet badanych przy użyciu testu cobas® 4800 system, z wynikiem HPV18+ i wynikiem badania cytologicznego NILM czułość i swoistość w przypadku detekcji zmian $\geq$ CIN2 wynosiły odpowiednio 85.7% i 68.3% oraz odpowiednio 66.7% i 65.7% w przypadku zmian $\geq$ CIN3. Wartości PPV wynosiły odpowiednio 15.8% i 5.3% dla zmian $\geq$ CIN2 i $\geq$ CIN3, natomiast ryzyko wystąpienia choroby wśród kobiet z ujemnymi wynikami uzyskanymi przy użyciu zestawu CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) wynosiło 1.4% dla obu punktów odcięcia dla choroby.

Tab. 32. Skuteczność zestawu CINtec PLUS Cytology Kit wśród kobiet w wieku 30–65 lat z populacji HPV18+ i z wynikiem badania cytologicznego NILM.

Miara skuteczności	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	Diagnoza CPR $\geq$ CIN2	Diagnoza CPR $\geq$ CIN3	Diagnoza CPR $\geq$ CIN2	Diagnoza CPR $\geq$ CIN3
Czułość (%)	75.0 (6/8) (40.9, 92.9)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)	85.7 (6/7) (48.7, 97.4)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)
Swoistość (%)	73.3 (154/210) (67.0, 78.9)	72.1 (155/215) (65.7, 77.7)	68.3 (69/101) (58.7, 76.6)	65.7 (69/105) (56.2, 74.1)
Chorobowość (%)	3.7 (8/218)	1.4 (3/218)	6.5 (7/108)	2.8 (3/108)
PPV (%)	9.7 (6/62) (5.4, 13.1)	3.2 (2/62) (1.0, 5.0)	15.8 (6/38) (9.2, 21.1)	5.3 (2/38) (1.7, 8.3)
NPV (%)	98.7 (154/156) (97.0, 99.6)	99.4 (155/156) (98.5, 99.9)	98.6 (69/70) (95.0, 99.7)	98.6 (69/70) (96.6, 99.7)
1-NPV (%)	1.3 (2/156) (0.4, 3.0)	0.6 (1/156) (0.1, 1.5)	1.4 (1/70) (0.3, 5.0)	1.4 (1/70) (0.3, 3.4)
PLR	2.81 (1.49, 3.97)	2.39 (0.73, 3.74)	2.71 (1.46, 3.87)	1.94 (0.59, 3.18)
NLR	0.34 (0.10, 0.81)	0.46 (0.09, 1.11)	0.21 (0.04, 0.76)	0.51 (0.09, 1.24)
Współczynnik wyników dodatnich (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Uwaga: CPR = przegląd centralny przez patomorfologów; PPV = dodatnia wartość predykcyjna; NPV = ujemna wartość predykcyjna; PLR = wskaźnik wiarygodności dodatniego wyniku; NLR = wskaźnik wiarygodności ujemnego wyniku; liczby w nawiasach to (n/N) i 2-stronne 95-procentowe przedziały ufności.

ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

- Jeśli dozowanie płynu przy użyciu dozownika do odczynników jest niemożliwe, sprawdzić, czy w komorze napełniania wstępnego lub na menisku nie ma ciał obcych lub cząstek stałych, takich jak włókna lub osady. Jeśli dozownik jest zatkany, należy zaprzestać używania dozownika i skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej. Można również ponownie napełnić dozownik — w tym celu należy skierować wylot dozownika w stronę pojemnika na zlewki, zdjąć nasadkę dyszy i nacisnąć górną część dozownika.
- Sporadycznie może być obserwowana krystalizacja, której źródłem jest dozownik odczynników CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate. W badaniach nie wykazano wpływu krystalizacji na interpretację wyników. Jeśli krystały są widoczne na szkiełkach, należy wyczyścić końcówkę dyszy, a następnie napełnić dozownik w celu zapewnienia usunięcia pozostałości krystalizacji. Jeśli krystały są nadal obecne, należy zaprzestać używania dozownika i skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej w celu jego wymiany.
- Jeśli kontrola dodatnia wykazuje słabsze wybarwienie niż oczekiwano, należy sprawdzić czy wybrany protokół jest odpowiedni dla danego typu próbki; na przykład preparaty cytologiczne SurePath w porównaniu z preparatami ThinPrep i preparatami z wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną, wymagają zastosowania dłuższego czasu kondycjonowania komórek. Dodatkowo należy upewnić się, że w zbiornikach dozowników nie znajdują się zanieczyszczenia.
- Jeśli dla kontroli dodatniej otrzymano wynik ujemny, należy upewnić się, że preparat jest oznaczony odpowiednią etykietą z kodem kreskowym. Jeśli preparat jest oznaczony prawidłową etykietą, upewnić się, że w zbiornikach dozowników nie znajdują się zanieczyszczenia.
- Jeśli zaobserwowano intensywne wybarwienie tła, skrócić czasy inkubacji w protokołach barwienia. Dodatkowo należy upewnić się, że właściwie przygotowano roztwór płynu Reaction Buffer.
- Jeśli zaobserwowano słabe wybarwienie, wydłużyć czasy inkubacji w protokołach barwienia. W przypadku preparatów wymazów wykonywanych metodą konwencjonalną należy również dostosować czas inkubacji podczas kondycjonowania komórek.

- Czerwony osad, który wskazuje na ekspresję białka Ki-67, rozpuszcza się w alkoholu. Jeśli barwienie pod kątem białka Ki-67 jest słabe lub nie występuje, należy upewnić się, że nie użyto hematoksyliny zawierającej alkohol i wykonano zalecane procedury postępowania po obróbce przedstawione w części „Procedura postępowania po obróbce — zatapianie i nakładanie szkiełek nakrywkowych”.
- Jeśli próbka wymyje się ze szkiełka, należy sprawdzić preparat, aby upewnić się, że próbka została prawidłowo przygotowana zgodnie z instrukcjami zawartymi w części „Przygotowanie próbek” oraz, że użyto zalecanego typu szkiełka mikroskopowego.
- Aby uzyskać informacje o środkach zaradczych należy zapoznać się z częścią „Procedura barwienia” lub przewodnikiem użytkownika aparatu albo skontaktować się z lokalnym przedstawicielem działu pomocy technicznej.
- Jeśli zatyczka fiolki z próbką w podłożu RCCM jest niedopasowana lub fiolka z próbką jest nieszczelna, można zamówić zatyczki zamienne (zatyczki dostarczane luzem w worku, 250/worek, REF 08037230190 lub 8 tac po 48/opakowanie, REF 06913512001).

BIBLIOGRAFIA

- Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. Cell. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2008;17(10):2536-2545.
- Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16^{INK4a} immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. Cancer Cytopathol. 2012;120(5):294-307.
- Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16-INK4a results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 2013;14(2):168-76.

6. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. J Cell Physiol. 2000;182:311-22.
7. Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathol. 2011;119(3):158-66.
8. Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol Oncol. 2011;121(3):505-9.
9. Ravarino A, Nemolato S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. Am J Clin Pathol. 2012;138(5):652-6.
10. Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16(INK4a) and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. Cancer Cytopathol. 2012;120(1):26-34.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. J Natl Cancer Inst. 2013;105(20):1550-7.
12. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. J Natl Cancer Inst. 2015 Sep 15;107(12):djv257.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triage HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. Int J Cancer. 2015;136(10):2361-68.
14. Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. Clin Cancer Res. 2012;18(15):4154-62.
15. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. Cancer Cytopathol. 2015. 123(6):373-81.
16. Dona MG, Vocaturo A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. Gynecol Oncol. 2012;126(2):198-202.
17. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. Cancer Cytopathol. 2015;123(4):212-218.
18. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16^{INK4a}-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. Am J Clin Pathol. 2016; 145(1):35-45.
19. Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16(INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. Pathologica. 2015;107(3-4):185-191.
20. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triage HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. Gynecol Oncol. 2017;144:51-56.
21. Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. JAMA Oncol. 2019;5(2):181-186.
22. Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. JAMA Intern Med. 2019;179(7):881-888.
23. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. Cancer Cytopathol. 2014;122(12):914-20.
24. Arean-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. Virchows Arch. 2018;473(5):599-606.
25. Ebisch RMF, van der Horst J, Hermens M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. Mod Pathol. 2017;30(7): 1021-1031.
26. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
27. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 24 June 2020 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

28. Nayar R and Wilbur DC, eds. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes. 3rd ed. 2015, Springer International Publishing: Switzerland.

UWAGA: W tym dokumencie jako separator dziesiętny do zaznaczenia granicy między częścią całkowitą a ułamkową cyfry dziesiętnej zawsze używana jest kropka. Nie jest używany separator tysięcy.

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności można znaleźć pod adresem: <http://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Symbole

Firma Ventana stosuje określone poniżej symbole i oznaczenia dodatkowo do symboli wymienionych w normie ISO 15223-1 (dotyczy USA: więcej informacji można znaleźć pod adresem elabdoc.roche.com/symbols).



Globalny Numer Jednostki Handlowej

Rx only

Dotyczy USA: Przestroga: Prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zlecenie lekarza.

HISTORIA ZMIAN

Wer.	Aktualizacje
J	Zaktualizowano szablony i oznaczenia. Dodano aparat BenchMark ULTRA PLUS.

WŁASNOŚĆ INTELEKTUALNA

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC i COBAS są znakami towarowymi firmy Roche. Nazwy i znaki towarowe wszystkich pozostałych produktów stanowią własność odpowiednich właścicieli.

© 2025 Ventana Medical Systems, Inc.

For USA: Rx only

DANE KONTAKTOWE



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

www.roche.com



0123