

INTENDED USE

The PrepStain® System (formerly the AutoCyte® PREP System) is a liquid-based thin layer cell preparation process. The PrepStain® System produces SurePath® slides that are intended as replacements for conventional gynecologic Pap smears. SurePath® slides (formerly AutoCyte® PREP slides) are intended for use in the screening and detection of cervical cancer, pre-cancerous lesions, atypical cells and all other cytologic categories as defined by The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses.^{1,19}

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE PROCEDURE

The PrepStain® System converts a liquid suspension of a cervical cell sample into a discretely stained, homogeneous thin-layer of cells while maintaining diagnostic cell clusters.²⁻⁹ The process includes cell preservation, randomization, enrichment of diagnostic material, pipetting, sedimentation, staining, and coverslipping to create a SurePath® slide for use in routine cytology screening and categorization as defined by The Bethesda System.¹ The SurePath® slide presents a well-preserved population of stained cells present within a 13mm diameter circle. Air-drying artifact, obscuring, overlapping cellular material and debris are largely eliminated. The numbers of white blood cells are significantly reduced, allowing for easier visualization of epithelial cells, diagnostically relevant cells and infectious organisms.

The SurePath® process begins with qualified medical personnel using a broom-type sampling device (e.g., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - The Netherlands) or an endocervical brush/plastic spatula combination (e.g., Cytobrush® Plus GT and Pap Perfect® spatula, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) with detachable head(s) to collect a gynecologic specimen. Rather than smearing cells collected by the sampling devices on a glass slide, the heads of the sampling devices detach from the handle and are placed into a vial of SurePath® Preservative Fluid. The vial is capped, labeled, and sent with appropriate paperwork to the laboratory for processing. The heads of the sampling devices are never removed from the preservative vial containing the collected sample.

In the laboratory, the preserved sample is mixed by vortexing and then transferred onto PrepStain® Density Reagent. An enrichment step, consisting of centrifugal sedimentation through Density Reagent, partially removes non-diagnostic debris and excess inflammatory cells from the sample. After centrifugation, the pelleted cells are resuspended, mixed and transferred to a PrepStain® Settling Chamber mounted on a SurePath® PreCoat slide. The cells are sedimented by gravity, then stained using a modified Papanicolaou staining procedure. The slide is cleared with xylene or a xylene substitute and coverslipped. The cells, presented within a 13mm diameter circle, are examined under a microscope by trained cytotechnologists and pathologists with access to other relevant patient background information.

LIMITATIONS

- Gynecologic specimens for preparations using the PrepStain® System should be collected using a broom-type sampling device or an endocervical brush/plastic spatula combination with detachable head(s) according to the standard collection procedure provided by the manufacturer. Wooden spatulas should not be used with the PrepStain® System. Endocervical brush/plastic spatula combinations that are not detachable should not be used with the PrepStain® System.
- Training by authorized persons is a prerequisite for the production and evaluation of SurePath® slides. Cytotechnologists and pathologists will be trained in morphology assessment on the SurePath® slides. Training will include a proficiency examination. Laboratory customers will be provided with the use of instructional slide and test sets. TriPath Imaging®, Inc. will also provide assistance in the preparation of training slides from each customer's own patient populations.
- Proper performance of the PrepStain® System requires the use of only those supplies supported by TriPath Imaging, or recommended by TriPath Imaging, for use with the PrepStain® System. Used supplies should be disposed of properly in accordance with institutional and governmental regulations.
- All supplies are intended for single use only and cannot be reused.

Reagents



For In Vitro Diagnostic use. For laboratory use only.

Warnings



SurePath® Preservative Fluid contains an aqueous solution of denatured ethanol. The mixture contains small amounts of methanol and isopropanol. Do not ingest.



PrepStain® Density Reagent contains sodium azide. Do not ingest. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent buildup of azide. For further information, refer to publication DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, issued by the Centers for Disease Control. See website; www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG combination cytology stain contains alcohol. Toxic if ingested. Do not breath vapors. Use with adequate ventilation. Avoid contact with skin and eyes. Highly flammable.

PRECAUTIONS

- Good laboratory practices should be followed and all procedures for use of the PrepStain® System should be strictly observed.
- Reagents should be stored at room temperature (15° to 30° C) and used prior to their expiration dates to assure proper performance. The storage condition for SurePath® Preservative Fluid without cytologic samples is up to 36 months from date of manufacture at room temperature (15° to 30° C). The storage limit for SurePath® Preservative Fluid with cytologic samples is 6 months at refrigerated temperature (2° to 10° C) or 4 weeks at room temperature (15° to 30° C).
- Avoid splashing or generating aerosols. Operators should use appropriate hand, eye and clothing protection.
- SurePath® Preservative Fluid was tested for antimicrobial effectiveness against: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis and Aspergillus niger and found to be effective. SurePath® Preservative samples inoculated with 10⁶ CFU/ml of each species yielded no growth after 14 days (28 days for Mycobacterium tuberculosis) of incubation under standard conditions. However, universal precautions for safe handling of biological fluids should be practiced at all times.
- Failure to follow recommended procedures as outlined in the PrepStain® System Operator's Manual may compromise performance.

MATERIALS REQUIRED

Refer to the Operator's Manual of the PrepStain® System for complete information concerning reagents, components and accessories. Not all the materials listed below are required for preparing SurePath® slides manually (without using the PrepStain® instrument).

Materials Provided

- PrepStain® Instrument
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (includes SurePath® Preservative Fluid)
- Cervical Sampling Device(s) with Detachable Head(s)
- PrepStain® Density Reagent
- PrepStain® Syringing Pipettes
- PrepStain® Settling Chambers
- Cytology Stain Kit
- SurePath® PreCoat slides
- Centrifuge Tubes
- Slide and Tube Racks
- Disposable Transfer and Aspirator Tips

Materials Required But Not Provided

- Vortex Mixer
- Deionized Water (pH 7.5 to 8.5)
- Isopropanol and Reagent Grade Alcohol
- Clearing Agent, Mounting Media and Glass Coverslips

Storage

The storage condition for SurePath® Preservative Fluid without cytologic samples is up to 36 months from date of manufacture at room temperature (15° to 30° C).

The storage limit for SurePath® Preservative Fluid with cytologic samples is 6 months at refrigerated temperatures (2° to 10° C) or 4 weeks at room temperature (15° to 30° C).

DIAGNOSTIC INTERPRETATION AND PREPARATION ADEQUACY

After TriPath Imaging-authorized user training on the PrepStain® System and SurePath® slides, the Bethesda System cytologic diagnostic criteria currently utilized in cytology laboratories for conventional Pap smears are applicable to SurePath® slides.¹ New guidelines recommended in the Bethesda 2001 Reporting System address liquid based preparations and define how to determine adequate cellularity specifically for these preparations.

In the absence of abnormal cells, a preparation is considered unsatisfactory if one or more of the following conditions are present:

- Inadequate numbers of diagnostic cells (fewer than 5,000 squamous epithelial cells per preparation). The following are the recommended procedures for estimating the count of well-preserved squamous epithelial cells on SurePath® slides:
 - For each microscope model used in screening, examine the manufacturer's microscope manual or contact the microscope manufacturer to determine the area of the field of view using the preferred ocular and the 40x objective. Alternatively, calculate the Field Area using a hemocytometer or similar microscopic slide measurement scale (Field area = πr^2 where r is the radius of the field).
 - The minimum average number of cells per 40x objective field should be determined by dividing the 130 mm² approximate cell deposition area of the SurePath® slide by the field area for the specific microscope. The resulting number is then divided into the 5000 cell minimum. The resulting number is the recommended minimum average adequacy number for epithelial cells in a 40x objective field of view. Record this number and keep it for routine reference use by the cytotechnologist. The Bethesda 2001 guidelines indicating the approximate number of cells per field for a 13 mm preparation.

- A minimum of ten fields should be counted horizontally or vertically along the center of the diameter of the preparation.
 - As a practical means of assessing cellularity, macroscopic evaluation of the visual density of the stained preparation can be used to check the adequacy of preparation production runs. There is, however, no substitute for the primary microscopic evaluation by the cytotechnologist during the screening process.
- (2) 75% or more of the cellular components are obscured by inflammation, blood, bacteria, mucus, or artifact that precludes cytologic interpretation of the slide.

Any abnormal or questionable screening observations should be referred to a pathologist for review and diagnosis. The pathologist should note any diagnostically significant cellular morphologic changes.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS: REPORT OF CLINICAL STUDIES

FIRST SPLIT-SAMPLE STUDY

TriPath Imaging conducted a prospective, masked, split-sample, matched-pair clinical investigation at multiple sites to compare the diagnostic results of SurePath® slides produced by the PrepStain® System with conventionally prepared Pap smears. The objective of the study was to assess SurePath® performance as compared to the conventional Pap smear for the detection of cervical cancer, pre-cancerous lesions and atypical cells in various patient populations and laboratory settings. Adequacy was also assessed for both preparations.

Following the recommendations of the FDA “Points to Consider” document for Cervical Cytology Devices¹⁰, each conventional Pap smear was prepared first, then the residual specimen remaining on the broom-type sampling device was deposited into a SurePath® Preservative Fluid Collection Vial.

After transport to the laboratory, each preserved cell suspension was processed according to the PrepStain® System protocol. The resulting SurePath® slide and the matching conventional Pap smear slide were screened manually and diagnosed independently using diagnostic categories consistent with The Bethesda System. At each site, a pathologist evaluated all abnormal slides.

Consistent with the method described by Shatzkin¹¹, this study used an independent reference pathologist at a designated referral site who reviewed all abnormal and discrepant cases, repair cases and 5% of the normal cases from all sites in a masked fashion to provide diagnostic “truth” for each case.

PATIENT CHARACTERISTICS

The ages of women in the study ranged from 16 to 87 years, with 772 being post-menopausal. Of the 8,807 patients represented in the study, 1,059 presented a history of prior abnormal Pap smears. The entire patient population studied consisted of the following racial groups: Caucasian (44%), Black (30%), Asian (12%), Hispanic (10%), Native American (3%) and Other (1%).

Exclusions were made for incorrect paperwork, patients under age 16, patients with hysterectomies, and cytologically unsatisfactory and inadequate specimens. An effort was made to include as many cases of cervical cancer and pre-cancerous disease as possible by accessing high risk, infrequently screened and referral patients.

Of 10,335 total cases, 9,046 were accepted and evaluated across eight different study sites. Of those 9,046 cases, 8,807 met The Bethesda System requirements for preparation adequacy and were available for complete diagnosis of both preparations.

STUDY RESULTS

The goal of the clinical trial was to compare the performance of SurePath® slides produced by the PrepStain® System to conventionally prepared Pap smears. Slides for both preparation types were classified according to The Bethesda System criteria. The study protocol was biased in favor of the conventional Pap smear because a conventional Pap smear was always prepared first, thereby restricting the SurePath® slide to residual material remaining on the broom-type device (the portion of the sample that normally would have been discarded).¹² The intended use of the SurePath® test is a direct-to-vial application where all collected cells will be available to the PrepStain® System.

To compare the sensitivities of the SurePath® and conventional Pap smear slides when read manually, the level of abnormality for the cases was determined by the reference pathologist and compared to diagnoses made by the study sites. The reference diagnosis was based upon the most abnormal diagnosis of either slide preparation by the independent reference pathologist. This result was used as the “truth” diagnosis or reference value for the comparison of the site results using PrepStain® System preparation of SurePath® slides versus conventional Pap smear preparation. The null hypothesis that the sensitivities of the two methods of slide preparation are equivalent was tested using the McNemar chi-square test for paired data.¹³ In this statistical test, discrepant results for the two preparation methods were compared.

Table 1 presents a direct comparison of all site results for SurePath® slides versus Conventional slides for the diagnostic treatment categories Within Normal Limits (WNL), Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance (ASCUS/AGUS), Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL), and Cancer (CA).

Table 1 First Split-Sample Study: 8,807 Matched Samples — Site Results Comparison — No Reference Pathologist

Results by Site								
Site No.	Slide Type	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1,514	47	4	81	24	0	1,670
	CN	1,560	33	6	40	31	0	1,670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1,302	60	2	19	5	0	1,388
	CN	1,326	37	2	19	4	0	1,388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1,272	179	6	83	35	1	1,576
	CN	1,258	209	9	68	30	2	1,576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1,227	61	3	86	44	2	1,423
	CN	1,209	57	0	94	61	2	1,423
Total	SP	7,759	509	36	342	135	26	8,807
	CN	7,768	531	39	271	177	21	8,807

SP = SurePath®

CN = Conventional

Table 2 presents a direct comparison of all site results for the SurePath® preparation method vs. Conventional Pap smear preparation for all diagnostic treatment categories.

Table 2 First Split-Sample Study: 8,807 Matched Samples
All Site Results Comparison —No Reference Pathologist

		Conventionally Prepared Pap Smear						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	WNL	7,290	361	20	63	24	1	7,759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7,768	531	39	271	177	21	8,807

No independent reference pathologist results are reflected in Table 1 or Table 2.

Table 3 First Split-Sample Study: Comparison of All Site Results for Cases Designated by the Reference Method as ASCUS/AGUS — Discordant Error Analysis

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	113	205	318
	Error	180	229	409
		293	434	727

Success = ASCUS/AGUS

Error = WNL & Reactive/Reparative

Result of McNemar Test: $\chi^2_{mc} = 1.62$, $p = 0.2026$

Errors Conventional: 205

Errors SurePath®: 180

Table 3 shows the results for cases identified by the reference pathologist to be ASCUS or AGUS. This evaluation allows analysis of the discordant errors to assess the sensitivity of the methods in the split-sample study design. Errors include WNL and Reactive/Reparative. Since the p-value determined by the McNemar test exceeded 0.05, the SurePath® and conventional Pap smear results were equivalent.

Table 4 First Split-Sample Study: Comparison of All Site Results for Cases Designated by the Reference Method as LSIL — Discordant Error Analysis

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	140	63	203
	Error	54	86	140
		194	149	343

Success = LSIL

Error = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 0.69$, $p = 0.4054$

Errors Conventional: 63

Errors SurePath®: 54

Table 4 shows the results for cases identified by the reference pathologist to be LSIL. Errors include WNL, Reactive/Reparative and ASCUS/AGUS. As with ASCUS/AGUS, the sensitivity of the two methods in the split-sample study was statistically equivalent with a p-value in excess of 0.05.

Table 5 First Split-Sample Study: Comparison of All Site Results for Cases Designated by the Reference Method as HSIL+ Discordant Error Analysis (LSIL is not an error)

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	160	28	188
	Error	36	38	74
		196	66	262

Success = HSIL+

Error = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 1.00$, $p = 0.3173$

Errors Conventional: 28

Errors SurePath®: 36

Table 5 shows results for cases identified by the reference pathologist to be HSIL+. In this comparison, LSIL was not considered an error but rather a discrepancy.^{10,14,15} Error includes WNL, Reactive/Reparative and ASCUS/AGUS. The sensitivity analysis of the discordant errors showed statistical equivalence of the methods in the split-sample study.

Table 6 First Split-Sample Study: Discordant Error Analysis for Cancer Cases (HSIL is not an error; LSIL is considered an error)

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	19	2	21
	Error	5	1	6
		24	3	27

Success = Cancer

Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 1.645$, $p = 0.1980$

Errors Conventional: 2

Errors SurePath®: 5

Table 6 shows results (all sites) for cases judged to be cancer by the reference method. Errors include WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. The sensitivity analysis of the discordant errors showed statistical equivalence of the methods. These 27 cancer cases were included in the re-evaluation study. This data can be found in Table 9.

Table 7 First Split-Sample Study: Comparison of All Site Results for Cases Designated by the Reference Method as HSIL+ Discordant Error Analysis (LSIL was considered an error in this analysis)

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	94	33	127
	Error	67	68	135
		161	101	262

Success = (HSIL+)

Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 11.56$, $p = 0.0007$

Errors Conventional: 33

Errors SurePath®: 67

Table 7 shows results for cases identified by the reference pathologist to be HSIL+. Error includes WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. Though not consistent with the original study protocol¹⁰, a statistical comparison of methods was performed where

LSIL was considered a diagnostic error against a case determined to be HSIL+ by the single independent reference pathologist. In this statistical comparison of diagnostic sensitivities, when LSIL is considered an error, as opposed to a minor discrepancy, SurePath® slides prepared by the PrepStain® System would not be equivalent to the conventionally prepared Pap smear for detection of HSIL+ abnormality in the split-sample study.

MASKED RE-EVALUATION OF HSIL+ CASES

A new evaluation was conducted to determine if the results were affected by preparation quality or interpretational subjectivity. In order to assess the 262 cases which were diagnosed as HSIL+ in the original study (Table 7), an additional evaluation was conducted after implementing a new training program for cytology professionals designed to emphasize consistent interpretation between the diagnostic groups of The Bethesda System. These HSIL+ cases were re-masked as part of a re-evaluation consisting of a total of 2,438 specimens prepared using the same split sample protocol. Study site results for the two preparations were then compared to a new reference value which required agreement of at least two of three independent reference pathologists as to the most abnormal cytology diagnosis.

In the reference process for the re-evaluation, both slide preparations from the discordant cases (PrepStain®-prepared SurePath® slides and conventionally prepared slides) were rescreened by a second cyto technologist, and newly identified abnormalities were added to those from the initial screening. Three reference cytopathologists then evaluated all discordant cases using a masked protocol. This more stringent reference method reduced the number of HSIL+ reference cases from 262 in the original study to 209 in the re-evaluation. The 53 case difference may be explained as follows: 48 cases were diagnosed by the more stringent reference method as LSIL or less severe; the adequacy of 3 cases was judged unsatisfactory upon re-evaluation; and the remaining 2 cases were not available for assessment in the masked re-evaluation study.

Table 8 Re-Evaluation Study: Discordant Error Analysis for 209 Original HSIL+ Cases Re-Evaluated by the More Stringent Reference Criteria Involving Three Independent Reference Pathologists

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	153	26	179
	Error	24	6	30
		177	32	209

Success = HSIL+

Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 0.02$, $p = 0.8875$

Errors Conventional: 26

Errors SurePath®: 24

Table 8 shows results for cases identified by the reference pathologist to be HSIL+. Error includes WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. In this comparison, LSIL was considered a diagnostic error against a case determined to be HSIL+ by the independent reference pathologist. Comparison of diagnostic sensitivities showed statistical equivalence between the two methods.

Table 9 Re-Evaluation Study: Discordant Error Analysis for Cancer Cases (HSIL is not an error; LSIL is considered an error)

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	32	3	35
	Error	3	0	3
		35	3	38

Success = Cancer

Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 0.00$, $p = 1.0000$

Errors Conventional: 3

Errors SurePath®: 3

Table 9 shows results for cases judged to be cancer by the new reference method (all sites). Errors include WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. One error resulted from a LSIL interpretation. All other errors involved interpretation of slides as ASCUS/AGUS or WNL. The sensitivity analysis of the discordant errors showed statistical equivalence of the methods.

The masked re-evaluation contained 2097 new cases that were used to re-mask the original HSIL+ samples. The analysis and comparison of the preparations from these new cases follows in Table 10.

Table 10 Re-Evaluation Study: 2097 Direct Site Results Comparison — No Reference Pathologist

		Conventionally Prepared Pap Smear					
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	WNL	1,561	128	0	47	30	0
	ASCUS	80	37	1	6	8	1
	AGUS	9	7	0	0	1	0
	LSIL	33	11	1	33	11	1
	HSIL	26	18	1	18	19	3
	CA	1	2	0	0	1	2
	Total	1,710	203	3	104	70	7
	Total	2,097					

Of the 2097 new cases described above, 77 were diagnosed HSIL+ by the reference pathologists. Table 11 presents the sensitivity analysis for those 77 HSIL+ cases.

Table 11 Re-Evaluation Study: Comparison of All Site Results for Cases Designated by the Reference Method as HSIL+ Discordant Error Analysis (LSIL was considered an error in this analysis)

		Conventionally Prepared Slide	
		Success	Error
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Success	25	21
	Error	21	10
		46	31

Success = HSIL+

Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Result of McNemar Test: $X^2_{mc} = 0.00, p = 1.0000$

Errors Conventional: 21

Errors SurePath®: 21

Analysis of the discordant errors in Table 11 showed an equal number of HSIL+ misses for both preparation methods. Error includes WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. The statistical test demonstrated equivalence between the two methods in the split-sample design even when LSIL is considered an error against a reference value of HSIL+.

Table 12 summarizes the descriptive diagnoses of benign findings for all sites.

Table 12 First Split-Sample Study: Summary of Benign Cellular Changes

Descriptive Diagnosis (No. of Patients: 8,807)	PrepStain® Prepared SurePath® Slide		Conventionally Prepared Slide	
	N	%	N	%
Benign Cellular Changes				
*Infection:				
Candida species	440	5.0	445	5.1
Trichomonas vaginalis	118	1.3	202	2.3
Herpes	8	0.1	6	0.1
Gardnerella	85	1.0	44	0.5
Actinomyces species	6	0.1	2	<0.1
Bacteria (other)	52	0.6	191	2.2
**Reactive Reparative Changes	424	4.8	319	3.6

* For Infection category above, observations of infectious agents are reported. More than one class of organism may be represented per case.

** Reactive reparative changes included reactive changes associated with inflammation, atrophic vaginitis, radiation and IUD use, as well as typical repair involving squamous, squamous metaplastic or columnar epithelial cells.

A total of 8,807 cases contained no "unsatisfactory" assessment by either the trial sites or the reference site. An additional 239 samples were scored "unsatisfactory" by either or both the trial sites or reference site on either or both preparations. Of the 239 unsatisfactory cases, 151 were noted on conventional slides only; 70 on SurePath® only; and 18 were observed on both the conventional and SurePath® slides. All unsatisfactory cases were excluded from diagnostic comparison by The Bethesda System categories, but were added back for comparison of preparation adequacy.

Tables 13 through 16 show preparation adequacy results for all sites.

Table 13 First Split-Sample Study: Preparation Adequacy Results

Preparation Adequacy (No. of Patients: 9,046)	PrepStain® Prepared SurePath® Slide		Conventionally Prepared Slide	
	N	%	N	%
Satisfactory	7,607	84.1	6,468	71.5
Satisfactory But Limited By:	1,385	15.3	2,489	27.5
Endocervical Component Absent	1,283	14.2	1,118	12.4
Air-Drying Artifact	0	0	17	0.2
Thick Smear	1	< 0.1	0	0
Obscuring Blood	53	0.6	121	1.3
Obscuring inflammation	102	1.1	310	3.4
Scant Squamous Epithelial Cells	4	< 0.1	7	0.1
Cytolysis	10	0.1	11	0.1
No Clinical History	0	0	0	0
Not Specified	60	0.7	1,018	11.3
Unsatisfactory for Evaluation:	54	0.6	89	1.0
Endocervical Component Absent	42	0.5	42	0.5
Air-Drying Artifact	0	0	0	0
Thick Smear	0	0	2	< 0.1
Obscuring Blood	7	0.1	6	0.1
Obscuring Inflammation	6	0.1	6	0.1
Scant Squamous Epithelial Cells	6	0.1	0	0
Cytolysis	0	0	1	< 0.1
No Clinical History	0	0	0	0
Not Specified	37	0.4	32	0.5

Note: Some patients had more than one subcategory.

Additional unsatisfactory cases were determined by the reference pathologist, and the total numbers of unsatisfactory results are reflected in Table 15. In the table, SAT = Satisfactory, SBLB = Satisfactory But Limited By (some specified condition), and UNSAT = Unsatisfactory.

Table 14 First Split-Sample Study: Summary of Preparation Adequacy Results All Clinical Trial Sites

		Conventionally Prepared Slide		
		SAT	SBLB	UNSAT
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	SAT	5,868	1,693	46
	SBLB	579	772	34
	UNSAT	21	24	9
		6,468	2,489	89

UNSAT: Result of McNemar Test $X^2_{mc} = 9.33, p = 0.0023$

SBLB: Result of McNemar Test $X^2_{mc} = 546.21, p = 0.0000$

Table 14 shows results from a comparison of preparation adequacy both preparation methods. There were significantly fewer Unsatisfactory and SBLB cases with SurePath® slides as compared to the conventional slides.

Table 15 First Split-Sample Study: Comparison of Unsatisfactory Results from the Clinical Trial Sites and the Reference Site

		Conventionally Prepared Slide	
		SAT	UNSAT
PrepStain® Prepared SurePath® Slide	SAT	8,807	151
	UNSAT	70	18
		8,877	169

Result of McNemar Test $X^2_{mc} = 29.69, p = 0.0000$

Table 15 shows comparison of satisfactory and unsatisfactory preparations from the evaluations at both the trial sites and the reference site. SurePath® slides show a statistically significant reduction of unsatisfactory cases compared to conventional slides.

Table 16 Preparation Adequacy Results by Site—SBLB Rates for No Endocervical Component (ECC)

Site	Cases	SurePath® SBLB no ECCs N (%)	Conventional SBLB no ECCs N (%)
1	995	60 (6.0)	85 (8.5)
2	1,712	121 (7.1)	54 (3.2)
3	712	180 (25.3)	141 (19.8)
4	1,395	165 (11.8)	331 (23.7)
5	500	58 (11.6)	56 (11.2)
6	1,695	473 (28.2)	238 (14.2)
7	589	19 (3.3)	3 (0.5)
8	1,448	207 (14.3)	210 (14.5)
All Sites	9,046	1,283 (14.2)	1,118 (12.4)

Detection of endocervical cells (Table 16) varied at different trial sites. Overall, there was a 1.8% difference in endocervical cell detection between the conventional Pap smear and SurePath® methods, which is similar to previous studies involving split-sample methodology.^{16,17}

SurePath® slides produced by the PrepStain® System provide similar results to conventional Pap smears in split-sample comparisons in a variety of patient populations and laboratory settings. In addition, there were significantly fewer Unsatisfactory and SBLB cases with SurePath® slides as compared to conventional Pap smears. The SurePath® slide may thus be used as a replacement for the conventional Pap smear for the detection of atypical cells, pre-cancerous lesions, cervical cancer, and all other cytologic categories defined by The Bethesda System.

EVALUATION OF SUREPATH® SLIDE PREPARATION USING THE PREPMATE® AND THE MANUAL METHODS

TriPath Imaging conducted a prospective, multi-center clinical trial to evaluate two modifications to the FDA-approved procedure of preparing SurePath® slides. The modifications to the approved process for preparing SurePath® slides were as follows:

- The addition of the PrepMate® accessory (PrepMate® method), which automates the initial manual steps of the PrepStain® laboratory process. The PrepMate® automatically mixes and removes the specimen from the SurePath® Preservative Vials, and layers the specimen onto PrepStain® Density Reagent in a test tube.
- The addition of the Manual method, in which, rather than using the PrepStain® instrument for cell suspension and slide staining, the cell suspension is manually layered onto the slide and stained by a laboratory technician.

This study evaluated over 400 cases in a masked comparison of the two alternative methods to the currently approved procedure for preparing SurePath® slides. The comparison was based on morphological and quality criteria applied to the slides prepared by each method.

The primary objectives of the study were to:

- Evaluate the morphological and quality aspects of SurePath® slides prepared using the PrepMate® method as compared to slides prepared according to the approved method of using the PrepStain® System (referred to as the PrepStain® method).
- Evaluate the morphological and quality aspects of SurePath® slides prepared using the Manual method as compared to slides prepared according to the approved PrepStain® method.

Additional objectives of the study were to:

- Determine if the amount of agreement between the approved PrepStain® method and the PrepMate® method was greater than would be expected by chance alone.
- Determine if the amount of agreement between the approved PrepStain® method and the Manual method was greater than would be expected by chance alone.
- Assess the specimen adequacy according to the PrepStain® System standards for preparing SurePath® slides using the PrepMate® method.
- Assess the specimen adequacy according to the PrepStain® System standards for preparing SurePath® slides using the Manual method.

PREPMATE® ACCESSORY

The PrepMate® is an accessory to the PrepStain® System that automates two manual steps—sample mixing and layering—of the PrepStain® laboratory process. The PrepMate® thoroughly mixes, accurately removes the specimen from the SurePath® Preservative Vials, and layers the specimen onto PrepStain® Density Reagent in a test tube. A specimen rack preloaded with specimen vials, syringing pipettes, and test tubes (containing the Density fluid) is placed on the instrument's tray. The rack contains up to twelve vials, tubes, and syringing pipettes, which are arranged in three rows of four each. Vials, syringing pipettes, and tubes are disposable. They must be used only once to eliminate the possibility of specimen contamination.

MANUAL METHOD

The Manual method uses a manual procedure to layer the cell suspension onto the slides and stain the preparation. Gynecologic specimen collection and processing are identical for both the Manual and approved PrepStain® methods up to the point of using the PrepStain® instrument.

In the PrepStain® method, centrifuged cell pellets are placed directly onto the PrepStain® instrument for automated processing to produce stained SurePath® slides.

In the Manual method, deionized water is added to the centrifuged cell pellet followed by vortexing to resuspend and randomize the sample. The sample is transferred into a settling chamber mounted on a SurePath® PreCoat slide. After the sample is settled onto the slide, the sample is stained by a batch Papanicolaou staining procedure.

SLIDE ACCOUNTABILITY

Table 17 shows the slide accountability for the clinical study slides. It is important to note that the study set consisted of **three slides per case**.

Table 17 Slide Accountability

	Cases	Slides
Total number enrolled in study	471	1,413
Total number excluded from analysis	–68	–204
Incomplete Documentation	–39	–117
Slides Prepared Incorrectly	–24	–72
Other exclusion reasons *	–5	–15
Total number included in analysis	403	1,209

* Missing samples, duplicate patient numbers, etc.

POPULATION DEMOGRAPHICS

Table 18 lists the patient age demographics for all cases included in the study population.

Table 18 Patient Demographics

Age	Number of Cases
19 or younger	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

Table 19 lists current clinical information and Table 20 lists clinical history for all cases included in the study population. Note that the selection of more than one item was allowed, so total case counts may not correlate to the total number of cases in the study population.

Table 19 Current Clinical Information

Clinical Information	Number of Cases
Cyclic	241
Irregular Cycle	69
Hysterectomy	16
Pregnant	9
Post Abortion	0
Post Natal	9
Post Menopausal	58
Peri-menopausal	1
Immune Depressed	0
Abnormal GYN Presentation	0
Vaginal Discharge	137
Estrogen Replacement Therapy	19
IUD	2
Oral Contraceptives/Implant	20
No Birth Control	181
Information not available	22

Table 20 Clinical History

History	Number of Cases
Previous abnormal cytology	13
History of abnormal bleeding	36
Biopsy	3
History of Cancer	1
Chemotherapy	0
Radiation	0
Colposcopy	9
HIV/AIDS	0
HPV (Wart Virus)	0
Herpes	1
History of BTL*	1
History of PID**	57
None Noted	363

* Bilateral tubal ligation

* Pelvic inflammatory disease

STUDY RESULTS

The purpose of this study was to establish that SurePath® slides prepared using the PrepMate® method and Manual method procedures compared favorably with those prepared using the approved PrepStain® method. The clinical data show that the slides prepared by the PrepMate® and Manual methods are comparable in morphology and quality to those prepared by the approved PrepStain® method.

The clinical data also show that the diagnostic performance is the same for the PrepMate® and Manual methods when compared to the approved PrepStain® method. In addition, the adequacy of slides prepared by the PrepMate® and Manual methods does not differ from those prepared by the approved PrepStain® method. These findings support the comparability of the PrepMate® and Manual methods to the approved PrepStain® method.

SPECIMEN MORPHOLOGY AND QUALITY

Table 21 shows the results for the primary objectives. The acceptability of the slides prepared by each method was evaluated according to the morphology and quality criteria shown in the table. For each criterion, the proportion of acceptable slides was calculated along with the corresponding exact 95% confidence interval.

Table 21 Comparison of Rates and Confidence Intervals (CI) for Acceptability Criteria

		Slide Preparation Method					
		PrepStain®		PrepMate®		Manual Method	
		Rate (n/N)	Exact 95% CI	Rate (n/N)	Exact 95% CI	Rate (n/N)	Exact 95% CI
Acceptability Criteria	Staining	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9926 (400/403)	0.9784, 0.9985	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973
	Clarity	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999
	Nuclear	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999
	Cytology	0.9950 (401/403)	0.9822, 0.9994	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	1.0000 (403/403)	0.9909, 1.0000
	Clustering	0.9926 (400/403)	0.9784, 0.9985	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999	0.9603 (387/403)	0.9363, 0.9771
	Cellularity	0.9305 (375/403)	0.9011, 0.9533	0.9454 (381/403)	0.9185, 0.9655	0.9404 (379/403)	0.9127, 0.9615

The PrepMate® and Manual method acceptability rates are nearly always equal to or greater than those of the PrepStain® method. In addition, the 95% exact confidence intervals for the PrepMate® and Manual methods substantially overlap those from the approved PrepStain® method for each criterion. This implies that the slides prepared by the PrepMate® and Manual methods are of comparable morphology and quality as those prepared by the approved PrepStain® method. Therefore, the preparation quality is the same for the approved method and the two test methods.

DIAGNOSTIC AGREEMENT

This analysis compares the diagnoses on slides prepared by each method. Because these data are derived from split samples, the diagnosis matrices presented in Table 22 and Table 23 are based on paired samples with each of the test slide preparation methods (PrepMate® and Manual method) being compared to the approved PrepStain® method. Ideally, the diagnosis obtained from slides prepared by two methods will be the same. This is represented by the number of slides with identical diagnoses, which appear on the main diagonal of each table.

The first measure of agreement is the proportion of slides on the main diagonal and the corresponding exact 95% confidence intervals. The second measure of agreement is obtained from the kappa statistic, which was computed for each comparison and tested. The test determines if the amount of agreement between the two methods is greater than would be expected by chance alone. Because the observations are ordered, it is more important to have observations that lie on or near the main diagonal. The weighted kappa statistic gives more weight to observations that lie on or near the main diagonal in the tables.

COMPARISON OF APPROVED PREPSTAIN® AND PREPMATE® METHODS

In Table 22, the number of slides on the main diagonal is 367 (2+334+8+6+5+11+1) and the proportion of slides on the main diagonal is 0.9107 (367/403) with exact 95% confidence limits of 0.8785 to 0.9366.

If unsatisfactory slides are excluded from the table by deleting the first row and first column, 397 slides remain. The proportion of slides on the main diagonal is 0.9194 (365/397) with 95% confidence limits of 0.8881 to 0.9442.

The results shown in Table 22 indicate that the approved PrepStain® method and the PrepMate® method have a high proportion of slides with diagnostic agreement, as indicated by the proportion of slides on the main diagonal in the table. Further, the weighted kappa analysis indicates that the agreement was much greater than could be attributed to chance alone.

Table 22 Crosstabulation of Diagnoses by PrepStain® and PrepMate® Methods

		PrepStain® Method Diagnosis									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
PrepMate® Method Diagnosis	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARISON OF APPROVED PREPSTAIN® AND MANUAL METHODS

In Table 23, the number of slides on the main diagonal is 353 (3+315+6+10+7+11+1). The proportion of slides on the main diagonal is 0.8759 (353/403). The exact binomial 95% confidence limits for this proportion are 0.8397 to 0.9065.

If unsatisfactory slides are excluded from the table by deleting the first row and first column, 398 slides remain. The proportion of slides on the main diagonal is 0.8794 (350/398) with 95% confidence limits of 0.8433 to 0.9097. The results shown in Table 23 indicate that the approved PrepStain® method and the Manual method have a high proportion of slides with diagnostic agreement, as indicated by the proportion of slides on the main diagonal in the table. Further, the weighted kappa analysis indicates that the agreement was much greater than could be attributed to chance alone. Therefore, the diagnostic performance is the same for the approved method and the two test methods.

Table 23 Crosstabulation of Diagnoses by PrepStain® and Manual Methods

		PrepStain® Method Diagnosis									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Manual Method Diagnosis	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

SLIDE ADEQUACY

Slide adequacy was assessed for each of the preparation methods. The data were analyzed using a two-sided McNemar test.¹⁸

Table 24 shows the adequacy results when comparing the approved PrepStain® method to the PrepMate® method.

Table 24 Adequacy Results for PrepMate® and PrepStain® Method Slides

		PrepStain®		
		Method Result		
PrepMate® Method Result	SAT or SBLB	SAT or SBLB	UNSAT	
	UNSAT	398	3	401
		0	2	2
		398	5	403

Table 25 shows the adequacy results when comparing the approved PrepStain® method to the Manual method.

Table 25 Adequacy Results for Manual and PrepStain® Method Slides

		PrepStain®		
		Method Result		
Manual Method Result	SAT or SBLB	SAT or SBLB	UNSAT	
		398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

These two comparisons demonstrate that the PrepMate® and Manual methods do not differ from the approved PrepStain® method with respect to slide adequacy.

DIRECT-TO-VIAL STUDY

Following the initial FDA approval of the PrepStain® System, TriPath Imaging conducted a large, multi-center study of the PrepStain® System when used as intended with direct-to-vial specimens. The previous clinical studies used a split-sample method in which the sample was first used to create a conventional Pap smear slide, and the remaining sample was placed in the SurePath® collection fluid and processed by the PrepStain® System to create a SurePath® slide. It is well established that split-sample designs underestimate the true performance of the test that is prepared from the residual cellular material¹².

This study compared the performance of SurePath® slides produced from direct-to-vial samples to conventional Pap smears. Results obtained with SurePath® were compared to results obtained from an historical cohort of conventional Pap smears. Specifically, this study evaluated whether SurePath® slides improved the detection of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL), adenocarcinoma in-situ, and cancer (HSIL+). All available biopsy data was collected for both slide populations.

The SurePath® population consisted of 58,580 slides collected prospectively from 57 clinics that had converted almost 100% from conventional Pap smear collection to the SurePath® specimen collection. The specimens collected at these clinics were sent to three clinical sites for processing.

The conventional population consisted of 58,988 slides from the same clinics as the SurePath® slides. This historical population was collected beginning with most recent slides before the clinics converted to SurePath®, and then going back in time until the conventional and SurePath® slide populations at each clinical site were approximately equal in number.

The results from this study showed a detection rate of 405/58,580 for the SurePath® slides compared to 248/58,988 for the conventional slides, resulting in detection rates of 0.691% and 0.420%, respectively (see Table 26). For these clinical sites and these study populations, this indicates a 64.4% (p<0.00001) increase in detection of HSIL+ lesions for the SurePath® slides.

Table 26 Comparison of Detection Rates by Site

HSIL+

Site	Conventional			SurePath®		
	Total	HSIL+	Percent (%)	Total	HSIL+	Percent (%)
1	41,274	216	0.523	40,735	300	0.736
2	10,421	19	0.182	10,676	78	0.731
3	7,293	13	0.178	7,169	27	0.377
Total	58,988	248	0.420	58,580	405	0.691

LSIL+

Site	Conventional			SurePath®		
	Total	LSIL+	Percent (%)	Total	LSIL+	Percent (%)
1	41,274	765	1.853	40,735	1501	3.685
2	10,421	96	0.921	10,676	347	3.250
3	7,293	99	1.357	7,169	127	1.772
Total	58,988	960	1.627	58,580	1975	3.371

ASCUS+

Site	Conventional			SurePath®		
	Total	ASCUS+	Percent (%)	Total	ASCUS+	Percent (%)
1	41,274	1,439	3.486	40,735	2,612	6.412
2	10,421	347	3.330	10,676	689	6.454
3	7,293	276	3.784	7,169	285	3.975
Total	58,988	2,062	3.496	58,580	3,586	6.122

Unsatisfactory

Site	Conventional			SurePath®		
	Total	UNSAT+	Percent (%)	Total	UNSAT+	Percent (%)
1	41,274	132	0.320	40,735	37	0.091
2	10,421	163	1.564	10,676	89	0.834
3	7,293	20	0.274	7,169	4	0.056
Total	58,988	315	0.534	58,580	130	0.222

Note: Site to site variations in performance are expected. Each laboratory must carefully monitor the quality of its work

PROCEDURE

Complete procedures for preparing SurePath® slides are provided in the Operator's Manual for the PrepStain® System.

BIBLIOGRAPHY

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich[®] System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich[®]: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich[®] specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NAME AND PLACE OF BUSINESS

TriPath Imaging[®], Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA (800) 426-2176
~~TRIPATH-IMAGING~~[®]

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
PrepStain[®] information: 1-800-426-2176 or 336-222-9707
Fax: 336-222-8819.
U.S. Patent Numbers: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Canada Patent Numbers: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Japan Patent Numbers: 2837076, 2781513.
European Patent Numbers: 0590504, 0590447, 0590506B.
Other U.S. and foreign patents pending.

MDCI Ltd
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL UK

EC REP
Authorized Representative

©2008 TriPath Imaging, Inc. All Rights Reserved.

VERWENDUNGSZWECK

Das PrepStain® System (früher AutoCyte® PREP System) ist ein Dünnschicht-Zellpräparationsverfahren auf Flüssigkeitsbasis. Das PrepStain® System produziert SurePath® Objektträger, die die herkömmlichen gynäkologischen Pap-Abstriche ersetzen. Die SurePath® Objektträger (früher AutoCyte® PREP Objektträger) werden zum Screening und Nachweisen von Zervikalkarzinomen, präkanzerösen Läsionen, atypischen Zellen und allen anderen zytologischen Kategorien verwendet, wie sie durch *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses*^{1,19} definiert werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES VERFAHRENS

Das PrepStain® System wandelt eine flüssige Suspension einer Probe von Zervikalzellen in eine diskret gefärbte, homogene dünne Schicht von Zellen um, während die diagnostischen Zellgruppen erhalten bleiben.²⁻⁹ Zu diesem Verfahren gehören Zellkonservierung, Randomisierung, Anreicherung des diagnostischen Materials, Pipettieren, Sedimentation, Färben und das Anbringen eines Deckglases, um einen SurePath® Objektträger herzustellen, wie er in routinemäßigem Zytologie-Screening und der Kategorisierung entsprechend dem Bethesda System verwendet wird.¹ Der SurePath® Objektträger zeigt eine gut erhaltene Population von gefärbten Zellen, die in einem Kreis von 13 mm Durchmesser angeordnet sind. Artefakte durch Lufttrocknung, trübendes und überdeckendes Zellmaterial und Gewebereste werden größtenteils eliminiert. Die Anzahl der weißen Blutkörperchen wird bedeutend verringert, was die Erkennung von Epithelzellen, für die Diagnose relevanten Zellen und infektiösen Organismen vereinfacht.

Das SurePath® Verfahren beginnt, indem durch qualifiziertes medizinisches Personal mit einer Abstrichbürste (z.B. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss – Niederlande) oder einer Kombination aus einer endozervikalen Bürste/einem Plastikspatel (z.B. Cytobrush® Plus GT und Pap Perfect® Spatel, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) mit abnehmbaren Köpfen eine gynäkologische Probe entnommen wird. Anstatt die mit dem Probenentnahme-Instrument entnommenen Zellen auf einen Glasobjektträger auszustreichen, werden die Köpfe der Probenentnahme-Instrumente vom Griff gelöst und in ein kleines Transportgefäß mit SurePath® Konservierungslösung gegeben. Das Gefäß wird verschlossen, etikettiert und mit den entsprechenden Unterlagen zur Verarbeitung an das Labor versandt. Die Köpfe der Probenentnahme-Instrumente werden nie aus dem Konservierungsgefäß entfernt, das die entnommene Probe enthält.

Im Labor wird die konservierte Probe durch Vortexieren vermischt und in ein Röhrchen mit PrepStain® Dichtereagenz gegeben. Ein Anreicherungsprozess bestehend aus Zentrifugalsedimentierung mit PrepStain® Dichtereagenz entfernt nicht-diagnostische Gewebereste und überschüssige Entzündungszellen teilweise von der Probe. Nach der Zentrifugation werden die Zellpellets resuspendiert, vermischt und in eine PrepStain® Absetzkammer übertragen, die auf einem vorbeschichteten SurePath® Objektträger angebracht ist. Die Zellen werden durch Schwerkraft sedimentiert, dann mit einem abgeänderten Papanicolaou-Färbeverfahren gefärbt. Der Objektträger wird mit Xylol oder einem Xylolersatz gereinigt und mit einem Deckglas versehen. Die innerhalb eines Kreises von 13 mm Durchmesser angeordneten Zellen werden von ausgebildeten Zytotechnikern und Pathologen, die Zugang zu anderen wichtigen Hintergrundinformationen der Patienten haben, unter dem Mikroskop untersucht.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die für die Aufbereitung mit dem PrepStain® System vorgesehenen gynäkologischen Proben sollten mit einer Abstrichbürste oder einer Kombination aus einer endozervikalen Bürste/einem Plastikspatel mit abnehmbaren Köpfen entsprechend dem vom Hersteller vorgegebenen Verfahren zur standardisierten Probeentnahme entnommen werden. Holzspatel sollen mit dem PrepStain® System nicht verwendet werden. Kombinationen aus endozervikalen Bürsten/Plastikspateln, deren Köpfe nicht abnehmbar sind, sollten mit dem PrepStain® System nicht verwendet werden.
- Voraussetzung für die Herstellung und die Auswertung der SurePath® Objektträger ist eine Ausbildung durch autorisiertes Personal. Zytotechniker und Pathologen werden für die Begutachtung der Morphologie auf den SurePath® Objektträgern ausgebildet. Die Ausbildung wird mit einem Leistungstest abgeschlossen. Den labortätigen Kunden werden Schulungsobjektträger und Testaufgaben zur Verfügung gestellt. TriPath Imaging®, Inc. ist den Kunden auch bei der Präparation einer Reihe von Schulungsobjektträgern behilflich, die aus der eigenen Patientenpopulation stammen.
- Damit das PrepStain® System einwandfrei funktioniert, dürfen nur Verbrauchsmaterialien verwendet werden, die von TriPath Imaging unterstützt oder von TriPath Imaging für die Verwendung mit dem PrepStain® System empfohlen werden. Gebrauchtes Verbrauchsmaterial muss vorschriftsgemäß entsorgt werden.
- Alle Verbrauchsmaterialien sind für den Einmalgebrauch gedacht und dürfen nicht wiederverwendet werden.

Reagenzien



Zur In-vitro-Diagnostik. Nur für den Laborgebrauch.

Warnhinweise



SurePath® Konservierungslösung enthält eine verdünnte Lösung von denaturiertem Ethanol. Die Mischung enthält einen geringen Anteil von Methanol und Isopropanol. Nicht einnehmen.



PrepStain® Dichtereagenz enthält Natriumazid. Nicht einnehmen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Bei Verschütten muss mit einer großen Menge von Wasser gespült werden, um eine Azidbildung zu verhindern. Weitere Informationen siehe DHHS (NIOSH) No. 78-127 *Current 13*, issued by the Centers for Disease Control. Siehe Webseite: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Die kombinierte PrepStain® EA/OG Zytologie-Färbung enthält Alkohol. Die Einnahme ist giftig. Keine Dämpfe einatmen. Für ausreichende Belüftung sorgen. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden. Leicht entzündlich.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Es müssen gute Laborpraktiken eingehalten und alle Verfahren für die Anwendung des PrepStain® Systems strikt befolgt werden.
- Damit die Reagenzien einwandfrei funktionieren, sollten sie bei Zimmertemperatur (15 bis 30 °C) gelagert und vor dem Verfallsdatum verwendet werden. SurePath® Konservierungslösung ohne zytologische Proben kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden. SurePath® Konservierungslösung mit zytologischen Proben kann 6 Monate im Kühlschrank bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 10 °C oder 4 Wochen bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden.
- Spritzer und Aerosolbildung sind zu vermeiden. Benutzer sollten einen entsprechenden Hand-, Augen- und Kleiderschutz tragen.
- SurePath® Konservierungslösung ist bakterientötend und wurde gegen die folgenden Erreger erfolgreich getestet: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* und *Aspergillus niger*. SurePath® Preservative-Proben, die mit 10⁶ KBE (koloniebildenden Einheiten) jeder Art inokuliert worden waren, zeigten nach 14 Tagen Inkubation (bzw. 28 Tagen bei *Mycobacterium tuberculosis*) unter Standardbedingungen kein Wachstum. Es sollte jedoch jederzeit entsprechend den allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen für einen sicheren Umgang mit biologischen Flüssigkeiten gehandelt werden.
- Ein Nichtbeachten der empfohlenen Verfahren, wie sie im Benutzerhandbuch des PrepStain® Systems beschrieben sind, kann die Funktion beeinträchtigen.

ERFORDERLICHES MATERIAL

Komplette Angaben über die Reagenzien, Bestandteile und Zubehörteile stehen im Benutzerhandbuch des PrepStain® System. Nicht alle der hier aufgeführten Materialien werden für die manuelle Präparation (ohne PrepStain® Gerät) der SurePath® Objektträger benötigt.

Geliefertes Material

- PrepStain® Gerät
- SurePath® Einsendegefäß für Konservierungslösung (inklusive SurePath® Konservierungslösung)
- Zervikale(s) Probeentnahme-Instrument(e) mit abnehmbarem Kopf
- PrepStain® Dichtereagenz
- PrepStain® Spritzpipetten
- PrepStain® Absetzkammern
- Zytologie-Färbungsmittel
- Vorbeschichtete SurePath® Objektträger
- Zentrifugenröhrchen
- Objektträger- und Röhrchengestelle
- Einmal-Transfer- und Saugspitzen

Erforderliches, jedoch nicht mitgeliefertes Material

- Vortexmischer
- Deionisiertes Wasser (pH 7,5 bis 8,5)
- Isopropanol und Reagenzalkohol
- Klärsubstanz, Eindeckmittel und Deckgläser

Lagerung

SurePath® Konservierungslösung ohne zytologische Proben kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden.

SurePath® Konservierungslösung mit zytologischen Proben kann 6 Monate im Kühlschrank bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 10 °C oder 4 Wochen bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden.

DIAGNOSTISCHE INTERPRETATION UND ADÄQUATHEIT DER PRÄPARATION

Nach der durch TriPath Imaging autorisierten Benutzerausbildung für das PrepStain® System und die SurePath® Objektträger werden die zytologischen diagnostischen Kriterien des Bethesda Systems angewendet, wie sie gegenwärtig in zytologischen Labors für herkömmliche Pap-Abstriche verwendet werden. Neue Richtlinien, die vom Bethesda 2001 Reporting System empfohlen werden, befassen sich mit auf Flüssigkeiten basierenden Präparationen und definieren, wie adäquater Zellreichtum speziell für diese Präparationen zu bestimmen ist.

In Abwesenheit abnormaler Zellen wird ein Präparat als unzureichend betrachtet, wenn mindestens einer der folgenden Umstände besteht:

- (1) Eine unzureichende Anzahl der für die Diagnose benötigten Zellen (weniger als 5000 squamöser Epithelzellen pro Präparat). Nachstehend folgen empfohlene Verfahren zum Schätzen der Anzahl konservierter squamöser Epithelzellen auf den SurePath® Objektträgern:
 - Für jedes beim Screening benutzte Mikroskop das Handbuch des Herstellers konsultieren oder den Hersteller des Mikroskops befragen, um die Größe des Sichtfeldes mit dem bevorzugten Okular und dem Objektiv mit 40facher Vergrößerung zu bestimmen. Die Größe des Sichtfeldes kann auch mit einem Hämozytometer oder einer ähnlichen mikroskopischen Messkala für Objektträger berechnet werden (Größe des Sichtfeldes = πr^2 , wobei r für den Radius des Sichtfeldes steht).
 - Die minimale durchschnittliche Anzahl Zellen pro Objektiv mit 40facher Vergrößerung sollte durch Dividieren des 130 mm² großen durchschnittlichen Zellablagerungsbereichs auf dem SurePath® Objektträger durch den Bereich des Feldes für das spezifische Mikroskop bestimmt werden. Die Anzahl wird dann in das 5000-Zellen-Minimum aufgeteilt. Die daraus resultierende Anzahl ist die empfohlene minimale adäquate Durchschnittsanzahl von Epithelzellen in einem Bereich des Sichtfelds für ein Objektiv mit 40facher Vergrößerung. Diese Anzahl notieren und als Referenz für den Zytologen aufbewahren. Die Bethesda 2001-Richtlinien geben die durchschnittliche Anzahl von Zellen pro Feld für eine 13 mm-Präparation an.
 - Es sollten mindestens 10 Felder horizontal oder vertikal am Zentrum des Durchmessers der Präparation entlang gezählt werden.
 - Als praktisches Mittel zur Bestimmung des Zellreichtums kann eine makroskopische Evaluierung der visuellen Dichte des gefärbten Präparats für die Überprüfungen der Adäquatheit der Präparate verwendet werden. Es gibt jedoch keinen Ersatz für die grundlegende mikroskopische Evaluierung durch den Zytologen während des Screenings.
- (2) 75 % oder mehr der Zellbestandteile sind durch Entzündungen, Blut, Bakterien, Schleim oder Artefakte verunreinigt, was eine zytologische Interpretation des Objektträgers ausschließt.

Jegliche abnormalen oder fraglichen Untersuchungsbeobachtungen sollten zur Überprüfung und Diagnose an einen Pathologen verwiesen werden. Der Pathologe sollte jegliche diagnostisch maßgeblichen morphologischen Zelländerungen notieren.

LEISTUNGSDATEN: BERICHT ÜBER KLINISCHE STUDIEN

ERSTE SPLIT-SAMPLE-STUDIE

TriPath Imaging führte eine prospektive, maskierte, klinische Split-Sample-Untersuchung mit gepaarten Proben in mehreren Zentren durch, um die diagnostischen Ergebnisse der mit dem PrepStain® System hergestellten SurePath® Objektträger mit herkömmlich hergestellten Pap-Abstrichen zu vergleichen. Ziel der Studie war es, die Leistung von SurePath® im Vergleich mit herkömmlichen Pap-Abstrichen zum Nachweis von Zervikalkarzinomen, präkanzerösen Läsionen und atypischen Zellen bei unterschiedlichen Patientenpopulationen und Laboreinrichtungen zu beurteilen. Es wurde ebenfalls die Adäquatheit für beide Präparationsarten beurteilt.

Gemäß den „Points to Consider“ der FDA (US-Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln) zu zervikalzytologischen Geräten¹⁰ wurde zuerst jeweils ein herkömmlicher Pap-Abstrich hergestellt, dann wurde das auf der Abstrichbürste verbliebene Untersuchungsmaterial in ein kleines Versandgefäß mit SurePath® Konservierungslösung gegeben.

Nach dem Transport zum Labor wurde jede konservierte Zellsuspension entsprechend dem PrepStain® System-Protokoll verarbeitet. Der daraus resultierende SurePath® Objektträger und der entsprechende herkömmliche Pap-Abstrich-Objektträger wurden manuell gescreent und unabhängig voneinander diagnostiziert nach den dem Bethesda System entsprechenden Diagnosekategorien. In allen Zentren untersuchte ein Pathologe alle abnormalen Objektträger.

Im Einklang mit der von Shatzkin¹¹ beschriebenen Methode wurde auch bei dieser Studie mit einem unabhängigen Referenzpathologen in einer bestimmten Zuweisungsstelle gearbeitet, der alle abnormalen und diskrepanten Fälle, Ausbesserungsfälle und 5 % der Normalfälle von allen Testzentren auf maskierte Weise überprüfte, um bei jedem Fall die diagnostische „Wahrheit“ zu ermitteln.

PATIENTENDATEN

Die Frauen, die an der Studie teilnahmen, waren zwischen 16 und 87 Jahre alt und 772 davon waren postmenopausal. Von den 8807 Patientinnen der Studie hatten 1059 eine Krankengeschichte mit abnormalen Pap-Abstrichen. Die gesamte untersuchte Patientenpopulation bestand aus den folgenden ethnischen Gruppen: Mitteleuropäisch (44 %), schwarz (30 %), asiatisch (12 %), lateinamerikanisch (10 %), amerikanische Ureinwohner (3 %) und andere (1 %).

Ausgeschlossen wurden Untersuchungen mit inkorrekten Unterlagen, Patientinnen, die jünger als 16 waren, Patientinnen mit einer Hysterektomie und zytologisch unbefriedigende und inadäquate Proben. Indem Patientinnen mit hohem Risiko, selten untersuchte und überwiesene Patientinnen in die Studie eingeschlossen wurden, wurde alles unternommen, um möglichst viele Fälle von Zervikalkarzinomen und präkanzerösen Krankheiten in die Studie einzuschließen.

Von insgesamt 10.335 Patientinnen wurden 9046 aufgenommen und in acht unterschiedlichen Studienzentren untersucht. Von diesen 9046 Patientinnen erfüllten 8807 die Bedingungen des Bethesda Systems zur Adäquatheit der Präparate und standen für eine komplette Diagnose mit beiden Präparaten zur Verfügung.

STUDIENERGEBNISSE

Ziel dieser klinischen Studie war es, die Leistung der mit dem PrepStain® System hergestellten SurePath® Objektträger mit herkömmlich hergestellten Pap-Abstrichen zu vergleichen. Die Objektträger wurden für beide Präparatstypen entsprechend den Kriterien des Bethesda Systems klassifiziert. Das Protokoll wurde zu Gunsten des herkömmlichen Pap-Abstrichs beeinflusst, da immer zuerst der herkömmliche Pap-Abstrich hergestellt wurde und dabei für den SurePath® Objektträger nur das auf der Abstrichbürste zurückgebliebene Material (der Anteil der Probe, der normalerweise entsorgt würde) zur Verfügung stand.¹² Der Verwendungszweck des SurePath® Tests ist eine Direct-to-vial-Anwendung, bei der alle entnommenen Zellen dem PrepStain® System zur Verfügung stehen.

Um die Sensitivität von SurePath® und herkömmlichen Pap-Abstrich-Objektträgern beim manuellen Lesen zu vergleichen, wurde das Level der Abnormalität von dem Referenzpathologen festgelegt und mit Diagnosen aus den Studienzentren verglichen. Der unabhängige Referenzpathologe basierte die Referenzdiagnose auf die abnormalste Diagnose eines der beiden Objektträgerpräparate. Dieses Resultat wurde als „wahre“ Diagnose oder Referenzwert für den Vergleich der Ergebnisse der SurePath® Objektträger, die mit dem PrepStain® System präpariert wurden, und der herkömmlichen Präparation von Pap-Abstrichen benutzt. Die Nullhypothese, dass die Sensitivität der beiden Methoden zur Präparation der Objektträger gleich ist, wurde mit dem McNemar Chi-Quadrat-Test für gepaarte Daten getestet.¹³ In diesem statistischen Test wurden voneinander abweichende Ergebnisse dieser beiden Präparationsmethoden untersucht.

Tabelle 1 zeigt direkte Vergleiche aller Ergebnisse von allen Zentren der SurePath® Objektträger mit herkömmlichen Objektträgern für die diagnostischen Behandlungskategorien Within Normal Limits (WNL, innerhalb normaler Grenzen), Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance (ASCUS/AGUS, atypische squamöse/glanduläre zervikale Läsion unbestimmter Signifikanz), Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL, niedriggradige squamöse intraepitheliale Läsionen), High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL, hochgradige squamöse intraepitheliale Läsionen), und Cancer (CA, Krebs).

Tabelle 1 Erste Split-Sample-Studie: 8.807 parallelisierte Stichproben – Vergleich der Ergebnisse der Zentren – Kein Referenzpathologe

Ergebnisse nach Zentren geordnet								
Zen-trums-nr.	Objekt-träger-Typ	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Gesamt
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1514	47	4	81	24	0	1670
	CN	1560	33	6	40	31	0	1670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1302	60	2	19	5	0	1388
	CN	1326	37	2	19	4	0	1388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1272	179	6	83	35	1	1576
	CN	1258	209	9	68	30	2	1576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1227	61	3	86	44	2	1423
	CN	1209	57	0	94	61	2	1423
Ge-samt	SP	7759	509	36	342	135	26	8807
	CN	7768	531	39	271	177	21	8807

SP = SurePath®
CN = Conventional (herkömmlich)

Tabelle 2 zeigt einen direkten Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für die Präparationsmethode mit dem SurePath® und die herkömmliche Pap-Abstrich-Präparation für alle diagnostischen Behandlungskategorien.

Tabelle 2 Erste Split-Sample-Studie: 8.807 parallelisierte Stichproben – Vergleich der Ergebnisse der Zentren – Kein Referenzpathologe

		Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Gesamt
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	WNL	7290	361	20	63	24	1	7759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Gesamt	7768	531	39	271	177	21	8807

In den Tabellen 1 und 2 werden keine Ergebnisse des unabhängigen Referenzpathologen gezeigt.

Tabelle 3 Erste Split-Sample-Studie: Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für Fälle, die von der Referenzmethode als ASCUS/AGUS bezeichnet werden – diskordante Fehleranalyse

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	113	205	318
	Fehler	180	229	409
		293	434	727

Erfolg = ASCUS/AGUS

Fehler = WNL & Reaktiv/Reparativ

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 205

Fehler bei SurePath®: 180

Tabelle 3 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als ASCUS oder AGUS bezeichnete. Diese Evaluierung ermöglicht die Analyse des diskordanten Fehlers, um die Sensitivität der Methode im Split-Sample-Studiendesign zu beurteilen. Zu den Fehlern gehören WNL und Reaktiv/Reparativ. Da der durch den McNemar Test bestimmte p-Wert 0,05 überschritt, waren die Ergebnisse von SurePath® und dem herkömmlichen Pap-Abstrich gleichwertig.

Tabelle 4 Erste Split-Sample-Studie: Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für Fälle, die von der Referenzmethode als LSIL bezeichnet werden – diskordante Fehleranalyse

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	140	63	203
	Fehler	54	86	140
		194	149	343

Erfolg = LSIL

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ & ASCUS/AGUS

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 63

Fehler bei SurePath®: 54

Tabelle 4 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als LSIL bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ und ASCUS/AGUS. Wie bei ASCUS/AGUS war die Empfindlichkeit der beiden Methoden in der Split-Sample-Studie statistisch gleichbedeutend mit einem p-Wert von mehr als 0,05.

Tabelle 5 Erste Split-Sample-Studie: Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für Fälle, die von der Referenzmethode als HSIL+ diskordante Fehleranalyse bezeichnet wurden (LSIL wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	160	28	188
	Fehler	36	38	74
		196	66	262

Erfolg = HSIL+

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ & ASCUS/AGUS

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 28

Fehler bei SurePath®: 36

Tabelle 5 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als HSIL+ bezeichnete. Bei diesem Vergleich wurden die LSIL nicht als Fehler, sondern als Diskrepanzen betrachtet.^{10,14,15} Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ und ASCUS/AGUS. Die Sensitivitätsanalyse der diskordanten Fehler wies statistische Entsprechungen der Methoden der Split-Sample-Studie auf.

Tabelle 6 Erste Split-Sample-Studie: Diskordante Fehleranalyse für Krebsfälle (HSIL ist kein Fehler, LSIL wird als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	19	2	21
	Fehler	5	1	6
		24	3	27

Erfolg = Krebs

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 2

Fehler bei SurePath®: 5

Tabelle 6 zeigt Ergebnisse (alle Zentren) für Fälle, die von der Referenzmethode als Krebs bezeichnet werden. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Die Sensitivitätsanalyse der diskordanten Fehler wies eine statistische Äquivalenz der Methoden auf. Diese 27 Krebsfälle wurden in die Neubestimmungstudie eingeschlossen. Diese Daten werden in Tabelle 9 gezeigt.

Tabelle 7 Erste Split-Sample-Studie: Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für Fälle, die von der Referenzmethode als HSIL+ diskordante Fehleranalyse bezeichnet wurden (LSIL wurde in dieser Analyse als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	94	33	127
	Fehler	67	68	135
		161	101	262

Erfolg = (HSIL+)

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 33

Fehler bei SurePath®: 67

Tabelle 7 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als HSIL+ bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Obwohl es nicht dem ursprünglichen Protokoll entspricht¹⁰, wurde ein statistischer Vergleich der Methoden durchgeführt, bei dem LSIL als diagnostischer Fehler im Vergleich zu einem Fall, den der unabhängige Referenzpathologen als HSIL+ definierte, betrachtet wurde. Bei diesem statistischen Vergleich diagnostischer Sensitivitäten, bei dem LSIL als Fehler und nicht als geringe Diskrepanz betrachtet wird, würden die vom PrepStain® System präparierten SurePath® Objektträger für den Nachweis von HSIL+-Abnormalitäten in der Split-Sample-Studie nicht den herkömmlich hergestellten Pap-Abstrichen entsprechen.

MASKIERTE NEUBESTIMMUNG VON HSIL+ FÄLLEN

Es wurde eine neue Auswertung durchgeführt, um herauszufinden, ob die Ergebnisse von der Qualität der Präparation oder von der Subjektivität der Auswertung beeinflusst wurden. Um die 262 Fälle, die in der ursprünglichen Studie mit HSIL+ diagnostiziert wurden (Tabelle 7) zu beurteilen, wurde eine zusätzliche Auswertung durchgeführt, nachdem ein neues Ausbildungsprogramm für Zytologen eingeführt wurde, das auf eine konsistente Auswertung der diagnostischen Gruppen des Bethesda Systems achtet. Diese HSIL+ Fälle wurden als Teil einer Neubestimmung mit insgesamt 2438 Proben neu maskiert, die nach dem gleichen Split-Sample-Protokoll präpariert wurden. Die Ergebnisse der Studienzentren für die zwei Präparationen wurden dann mit einem neuen Referenzwert verglichen, der bei den abnormalsten zytologischen Diagnosen die Zustimmung von mindestens zwei von drei unabhängigen Referenzpathologen verlangte.

Beim Referenzverfahren der Neubestimmung wurden beide Objektträgerpräparate der diskordanten Fälle (mit PrepStain® hergestellte SurePath® Objektträger und herkömmlich hergestellte Objektträger) durch einen zweiten Zytotechniker neu untersucht und die neu gefundenen Abnormalitäten wurden zu denen der ursprünglichen Untersuchung hinzugefügt. Mit einem maskierten Protokoll bestimmten drei Referenz-Zytopathologen alle diskordanten Fälle. Diese strengere Referenzmethode verringerte die Anzahl der HSIL+ Referenzfälle von 262 der Originalstudie auf 209 der Neubestimmung. Der Unterschied der 53 Fälle lässt sich folgendermaßen erklären: 48 Fälle wurden anhand der strengeren Referenzmethode als LSIL oder weniger ernst diagnostiziert; die Adäquatheit von 3 Fällen wurde bei der Neubestimmung als unbefriedigend befunden; und die verbleibenden 2 Fälle waren für eine Beurteilung in einer maskierten Neubestimmung nicht verfügbar.

Tabelle 8 Neubestimmungsstudie: Diskordante Fehleranalyse für 209 ursprüngliche HSIL+ Fälle, die mit strengeren Referenzkriterien, die drei unabhängige Referenzpathologen involvieren, neu bestimmt wurden.

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	153	26	179
	Fehler	24	6	30
		177	32	209

Erfolg = HSIL+

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 26

Fehler bei SurePath®: 24

Tabelle 8 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als HSIL+ bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. In diesem Vergleich wurden LSIL als diagnostische Fehler betrachtet, im Vergleich zu einem Fall, der vom unabhängigen Referenzpathologen als HSIL+ bestimmt wurde. Der Vergleich der diagnostischen Sensitivitäten wies statistische Äquivalenz der beiden Methoden auf.

Tabelle 9 Neubestimmungsstudie: Diskordante Fehleranalyse für Krebsfälle (HSIL ist kein Fehler, LSIL wird als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	32	3	35
	Fehler	3	0	3
		35	3	38

Erfolg = Krebs

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 3

Fehler bei SurePath®: 3

Tabelle 9 zeigt Ergebnisse für Fälle, die von der neuen Referenzmethode als Krebs betrachtet wurden (alle Zentren). Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Ein Fehler entstand aus einer LSIL-Interpretation. Alle anderen Fehler enthielten Auswertungen der Objektträger als ASCUS/AGUS oder WNL. Die Sensitivitätsanalyse der diskordanten Fehler wies eine statistische Äquivalenz der Methoden auf.

Die maskierte Neubestimmung bestand aus 2097 neuen Fällen, die zur Neumaskierung der ursprünglichen HSIL+ Proben benutzt wurden. Die Analyse und der Vergleich der Präparate dieser neuen Fälle folgen in Tabelle 10.

Tabelle 10 Neubestimmungsstudie: Direkter Vergleich der 2097 Ergebnisse der Zentren – Kein Referenzpathologe

		Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Gesamt
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	WNL	1561	128	0	47	30	0	1766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Gesamt	1710	203	3	104	70	7	2097

Von den oben beschriebenen 2097 neuen Fällen wurden 77 vom Referenzpathologen als HSIL+ bezeichnet. In Tabelle 11 wird die Empfindlichkeitsanalyse für die 77 HSIL+ Fälle dargestellt.

Tabelle 11 Neubestimmungsstudie: Vergleich der Ergebnisse aller Zentren für Fälle, die von der Referenzmethode als HSIL+ diskordante Fehleranalyse bezeichnet wurden (LSIL wurde in dieser Analyse als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	Erfolg	25	21	46
	Fehler	21	10	31
		46	31	77

Erfolg = HSIL+

Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL

Ergebnis des McNemar Tests: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fehler bei der herkömmlichen Methode: 21

Fehler bei SurePath®: 21

Die Analyse der diskordanten Fehler in Tabelle 11 zeigt für beide Präparationsmethoden eine gleiche Anzahl von HSIL+ Verlusten. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Der statistische Test zeigte im Split-Sample-Design eine Gleichwertigkeit der beiden Methoden, selbst wenn LSIL als Fehler gegen einen Referenzwert von HSIL+ betrachtet wird.

Tabelle 12 zeigt die darstellenden Diagnosen gutartiger Befunde von allen Zentren.

Tabelle 12 Erste Split-Sample-Studie: Zusammenfassung der gutartigen Zellveränderungen

Beschreibende Diagnose (Anz. Patientinnen: 8.807)	Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger		Herkömmlich präparierter Objektträger	
	N	%	N	%
Gutartige Zellveränderungen				
*Infektion:				
<i>Candida</i> -Spezies	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> -Spezies	6	0,1	2	<0,1
Bakterien (andere)	52	0,6	191	2,2
**Reaktive reparative Veränderungen	424	4,8	319	3,6

* Es wurden Beobachtungen von Infektionserregern für die oben genannten Infektionskategorien gemeldet. Pro Fall kann es sich um mehr als eine Klasse von Organismen handeln.

** Zu den reaktiven reparativen Veränderungen gehörten reaktive Veränderungen im Zusammenhang mit Entzündungen, atrophischer Vaginitis, Strahlen und dem Gebrauch von Intrauterinpeessaren so wie typische reparative Veränderungen mit squamösen, squamösen metaplastischen oder hochprismatischen Epithelzellen.

Bei insgesamt 8807 Fällen wurden weder im Test- noch im Referenzzentrum „unbefriedigende“ Beurteilungen abgegeben. Zusätzliche 239 Proben wurden von einem oder beiden, dem Test- und dem Referenzzentrum, für eines oder beide Präparate als „unbefriedigend“ bewertet. Von den 239 unbefriedigenden Fällen galten 151 auf nur herkömmlichen Objektträgern, 70 auf nur SurePath® und 18 auf sowohl den

herkömmlichen als auch auf den SurePath® Objektträgern als unbefriedigend. Die unbefriedigenden Fälle wurden vom diagnostischen Vergleich der Bethesda Systemkategorien ausgeschlossen, wurden aber für den Vergleich der Präparate wieder hinzugefügt.

In den Tabellen 13 bis 16 werden die Ergebnisse für die Adäquatheit der Präparate für alle Zentren dargestellt.

Tabelle 13 Erste Split-Sample-Studie: Ergebnisse der Adäquatheit der Präparate

Adäquatheit der Präparate (Anz. Patientinnen 9046)	Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger		Herkömmlich präparierter Objektträger	
	N	%	N	%
Befriedigend	7607	84,1	6468	71,5
Befriedigend, aber eingeschränkt durch:	1385	15,3	2489	27,5
Fehlen des endozervikalen Anteils	1283	14,2	1118	12,4
Artefakt durch Lufttrocknung	0	0	17	0,2
Dicker Abstrich	1	< 0,1	0	0
Trübendes Blut	53	0,6	121	1,3
Trübende Entzündung	102	1,1	310	3,4
Kaum squamöse Epithelzellen	4	< 0,1	7	0,1
Zytolyse	10	0,1	11	0,1
Keine klinische Vorgeschichte	0	0	0	0
Nicht näher beschrieben	60	0,7	1018	11,3
Unbefriedigend für die Auswertung:	54	0,6	89	1,0
Fehlen des endozervikalen Anteils	42	0,5	42	0,5
Artefakt durch Lufttrocknung	0	0	0	0
Dicker Abstrich	0	0	2	< 0,1
Trübendes Blut	7	0,1	6	0,1
Trübende Entzündung	6	0,1	6	0,1
Kaum squamöse Epithelzellen	6	0,1	0	0
Zytolyse	0	0	1	< 0,1
Keine klinische Vorgeschichte	0	0	0	0
Nicht näher beschrieben	37	0,4	32	0,5

Hinweis: Einige Patientinnen hatten mehr als eine Subkategorie.

Es wurden zusätzliche unbefriedigende Fälle vom Referenzpathologen bestimmt und die Gesamtzahl der unbefriedigenden Ergebnisse ist in Tabelle 15 dargestellt. Legende zur Tabelle: SAT = *Satisfactory* (befriedigend), SBLB = *Satisfactory But Limited By* (some specified conditions) (befriedigend, aber durch einige spezifische Bedingungen eingeschränkt) und UNSAT = *Unsatisfactory* (unbefriedigend).

Tabelle 14 Erste Split-Sample-Studie: Zusammenfassung der Ergebnisse für die Adäquatheit der Präparate – Alle klinischen Testzentren.

		Herkömmlich präparierter Objektträger			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	SAT	5868	1693	46	7607
	SBLB	579	772	34	1385
	UNSAT	21	24	9	54
		6468	2489	89	9046

UNSAT: Ergebnis des McNemar Tests X^2 mc = 9,33, p = 0,0023

SBLB: Ergebnis des McNemar Tests X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

Tabelle 14 stellt die Ergebnisse eines Vergleichs der Adäquatheit der Präparate der beiden Methoden dar. Bei den SurePath® Objektträgern gab es bedeutend weniger unbefriedigende und SBLB Fälle als bei den herkömmlichen Objektträgern.

Tabelle 15 Erste Split-Sample-Studie: Vergleich der unbefriedigenden Ergebnisse der klinischen Test- und Referenzzentren

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		SAT	UNSAT	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Objektträger	SAT	8807	151	8958
	UNSAT	70	18	88
		8877	169	9046

Ergebnis des McNemar Tests X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

In Tabelle 15 ist ein Vergleich von befriedigenden und unbefriedigenden Präparaten von sowohl der Auswertung der Test- als auch der Referenzzentren dargestellt. SurePath® Objektträger zeigen eine statistisch signifikante Reduktion der unbefriedigenden Fälle im Vergleich zu herkömmlichen Objektträgern.

Tabelle 16 Ergebnisse der Adäquatheit der Präparate nach Zentrum – SBLB Raten ohne endozervikale Komponente (Endocervical Component, ECC)

Zentrum	Fall	SurePath® SBLB ohne ECCs N (%)	Herkömmliche SBLB ohne ECCs N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1448	207 (14,3)	210 (14,5)
Alle Zentren	9046	1283 (14,2)	1118 (12,4)

Der Nachweis von Endozervikalzellen (Tabelle 16) war in den verschiedenen Testzentren unterschiedlich. Im Allgemeinen gab es beim Nachweisen der Endozervikalzellen einen Unterschied von 1,8 % zwischen der herkömmlichen Pap-Abstrich- und der SurePath® Methode, was früheren Studien mit der Split-Sample-Methode entspricht.^{16,17}

In Split-Sample-Vergleichen mit verschiedenen Patientenpopulationen und Laboreinrichtungen führen mit dem PrepStain® System hergestellte SurePath® Objektträger zu ähnlichen Ergebnissen wie die herkömmlichen Pap-Abstriche. Zusätzlich gab es bei den SurePath® Objektträgern bedeutend weniger unbefriedigende und SBLB Fälle als bei den herkömmlichen Pap-Abstrichen. Deshalb kann der SurePath® Objektträger als Ersatz für den herkömmlichen Pap-Abstrich für den Nachweis von atypischen Zellen, präkanzerösen Läsionen, Zervixkarzinomen und allen anderen zytologischen Kategorien, wie sie vom Bethesda System definiert sind, betrachtet werden.

AUSWERTUNG DER PRÄPARATION VON SUREPATH® OBJEKTTRÄGERN MIT DER PREPMATE® UND DER MANUELLEN METHODE

TriPath Imaging führte eine prospektive, multizentrische klinische Studie durch, um zwei Veränderungen am von der FDA zugelassenen Verfahren für die Präparation von SurePath® Objektträgern zu bewerten. Dies waren die Veränderungen am zugelassenen Verfahren für die Präparation von SurePath® Objektträgern:

- Hinzufügen des PrepMate® Zubehörs (PrepMate® Methode), das die ersten manuellen Schritte des PrepStain® Laborverfahrens automatisiert. PrepMate® mischt und entfernt die Probe automatisch aus den SurePath® Konservierungsröhrchen und schichtet die Probe auf das PrepStain® Dichtereagenz in einem Teströhrchen.
- Das Hinzufügen durch die manuelle Methode, bei der die Zellsuspension von einem Laboranten manuell auf den Objektträger geschichtet und gefärbt wird, anstatt mit dem für die Zellsuspension und das Färben des Objektträgers bestimmten PrepStain® Gerät.

Diese Studie bewertete mehr als 400 Fälle in einem Vergleich der zwei Alternativmethoden zu den gegenwärtig zugelassenen Verfahren zur Präparation der SurePath® Objektträger. Der Vergleich basierte auf morphologischen und Qualitätskriterien der Objektträger, die mit der jeweiligen Methode hergestellt worden waren.

Die Hauptziele der Studie waren:

- Auswertung der Morphologie- und Qualitätsaspekte der SurePath® Objektträger, die mit der PrepMate® Methode hergestellt wurden, im Vergleich mit den Objektträgern, die mit der zugelassenen Methode des PrepStain® Systems (als PrepStain® Methode bekannt) hergestellt wurden.
- Auswertung der Morphologie- und Qualitätsaspekte der SurePath® Objektträger, die mit der manuellen Methode hergestellt wurden, im Vergleich mit den Objektträgern, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden.

Zusätzliche Ziele der Studie waren:

- Die Bestimmung, ob die Übereinstimmung zwischen der zugelassenen PrepStain® Methode und der PrepMate® Methode größer war als sie vom Zufall alleine erwartet worden wäre.
- Die Bestimmung, ob die Übereinstimmung zwischen der zugelassenen PrepStain® Methode und der manuellen Methode größer war als sie vom Zufall alleine erwartet worden wäre.
- Die Beurteilung der Adäquatheit der Proben gemäß den Standards des PrepStain® Systems für die Präparation von SurePath® Objektträger mit der PrepMate® Methode.
- Die Beurteilung der Adäquatheit der Proben gemäß den Standards des PrepStain® Systems für die Präparation von SurePath® Objektträger mit der manuellen Methode.

PREPMATE® ACCESSORY

Das PrepMate® ist ein Zusatzgerät zu dem PrepStain® System, das zwei manuelle Schritte des PrepStain® Laborverfahrens automatisiert – Mischen und Auftragen der Probe. Das PrepMate® mischt die Probe gründlich, entfernt sie exakt aus den SurePath® Konservierungsröhrchen und schichtet die Probe auf das PrepStain® Dichtereagenz in einem Teströhrchen. Ein Probenhalter, der mit Probengefäß, Spritzpipetten und Teströhrchen (mit Dichtereagenz gefüllt) bestückt ist, wird auf die Instrumentenplatte gestellt. Der Probenhalter kann bis zu zwölf Gefäße, Röhrchen und Spritzpipetten laden, die in drei Reihen zu je vier angeordnet sind. Gefäße, Spritzpipetten und Röhrchen sind Einwegartikel. Sie dürfen nur einmal gebraucht werden, um das Risiko einer Probenverunreinigung zu eliminieren.

MANUAL METHOD

Bei der manuellen Methode wird ein manuelles Verfahren angewendet, um die Zellsuspension auf die Objektträger zu bringen und zu färben. Entnahme und Verarbeitung der gynäkologischen Probe verlaufen für die manuelle Methode und die zugelassene PrepStain® Methode gleich bis zu dem Punkt, wo das PrepStain® Gerät eingesetzt wird.

Bei der PrepStain® Methode werden die zentrifugierten Zellpellets für das automatisierte Verfahren zum Färben der SurePath® Objektträger direkt auf das PrepStain® Gerät gegeben.

Bei der manuellen Methode wird den zentrifugierten Zellpellets deionisiertes Wasser zugegeben, danach werden sie vortexiert, um die Probe zu resuspendieren und zu randomisieren. Die Probe wird in eine Absetzkammer übertragen, die auf einem vorbeschichteten SurePath® Objektträger angebracht ist. Nachdem sich die Probe auf den Objektträger abgesetzt hat, wird sie mit einem Batch-Färbeverfahren nach Papanicolaou gefärbt.

OBJEKTTRÄGERVERLÄSSLICHKEIT

Tabelle 17 zeigt die Objektträgerverlässlichkeit für die Objektträger aus der klinischen Studie. Es ist wichtig zu vermerken, dass das Studien-Set aus **drei Objektträgern pro Fall** bestand.

Tabelle 17 Objektträgerverlässlichkeit

	Fälle	Objekt-träger
Insgesamt in der Studie eingetragen	471	1413
Von der Analyse ausgeschlossen	–68	–204
Unvollständige Unterlagen	–39	–117
Inkorrekte Präparation der Objektträger	–24	–72
Andere Gründe zum Ausschluss*	–5	–15
Insgesamt in der Analyse enthalten	403	1209

* Fehlende Proben, doppelte Patientennummern usw.

DEMOGRAPHISCHE DATEN DER POPULATION

Tabelle 18 zeigt den Altersbereich der Patientinnen für alle Fälle der Studienpopulation.

Tabelle 18 Demographische Daten der Patientinnen

Alter	Anzahl der Fälle
19 oder jünger	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Gesamt	403

Tabelle 19 zeigt die gegenwärtigen klinischen Informationen und Tabelle 20 zeigt die Krankengeschichten aller Fälle der Studienpopulation. Dabei muss beachtet werden, dass mehrere Angaben gemacht werden konnten; deshalb stimmt die Anzahl der Fälle wahrscheinlich nicht mit der Anzahl der Teilnehmerinnen an der Studie überein.

Tabelle 19 Gegenwärtige klinische Informationen

Klinische Informationen	Anzahl der Fälle
Zyklisch	241
Unregelmäßiger Zyklus	69
Hysterektomie	16
Schwanger	9
Nach Abtreibung	0
Post-Natal	9
Post-Menopausal	58
Peri-Menopausal	1
Geschwächtes Immunsystem	0
Abnormale GYN Präsentation	0
Vaginale Ausscheidung	137
Östrogensersatztherapie	19
Intrauterinpressar	2
Orales Verhütungsmittel/Implantat	20
Keine Familienplanung	181
Informationen nicht erhältlich	22

Tabelle 20 Klinische Vorgeschichte

Vorgeschichte	Anzahl der Fälle
Vorherige abnormale Zytologie	13
Krankengeschichte von abnormalen Blutungen	36
Biopsie	3
Krankengeschichte mit Krebs	1
Chemotherapie	0
Strahlentherapie	0
Kolposkopie	9
HIV/AIDS	0
HPV (Humanes Papillomavirus)	0
Herpes	1
Beidseitige Eileiterunterbindung (BTL)*	1
Adnexitis (PID)**	57
Keine Angaben	363

* Bilateral tubal ligation

* Pelvic inflammatory disease

STUDIENERGEBNISSE

Ziel der Studie war es zu zeigen, dass SurePath® Objektträger, die mit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode hergestellt wurden, im Vergleich zu denen, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden, positiv ausfielen. Gemäß den klinischen Daten sind die Objektträger, die mit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode hergestellt wurden, in Bezug auf Morphologie und Qualität mit der Adäquatheit derjenigen, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden, vergleichbar.

Die klinischen Daten zeigen auch, dass die diagnostische Leistungsfähigkeit die gleiche ist, wenn die PrepMate® Methode und die manuelle Methode mit der zugelassenen PrepStain® Methode verglichen werden. Außerdem unterscheidet sich die Adäquatheit der Objektträger, die mit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode hergestellt wurden, nicht von denen, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden. Diese Ergebnisse unterstützen die Vergleichbarkeit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode mit der genehmigten PrepStain® Methode.

MORPHOLOGIE UND QUALITÄT DER PROBEN

In Tabelle 21 sind die Ergebnisse der Untersuchung der Hauptziele dargestellt. Die Akzeptanz der mit jeder der Methoden hergestellten Objektträger wurde entsprechend den Morphologie- und Qualitätskriterien in Tabelle 21 beurteilt. Für jedes Kriterium wurde der Anteil der akzeptablen Objektträger zusammen mit dem entsprechenden exakten 95 %igen Konfidenzintervall berechnet.

Tabelle 21 Vergleich von Verhältnissen und Konfidenzintervallen (KI) für die Akzeptanzkriterien

	Präparationsmethode der Objektträger					
	PrepStain®		PrepMate®		Manuelle Methode	
	Verhältnis (n/N)	Exakter 95 % KI	Verhältnis (n/N)	Exakter 95 % KI	Verhältnis (n/N)	Exakter 95 % KI
Färben	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
Klarheit	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
Kern	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
Zytologie	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
Anhäufung	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
Zellreichtum	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Die Akzeptanzraten für die PrepMate® Methode und die manuelle Methode sind beinahe immer gleich oder größer als die der PrepStain® Methode. Außerdem überdecken die exakten 95 %igen Konfidenzintervalle der PrepMate® Methode und der manuellen Methode diejenigen der zugelassenen PrepStain® Methode erheblich für jedes Kriterium. Das bedeutet, dass die Objektträger, die mit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode hergestellt wurden, in Bezug auf die Morphologie und Qualität mit denen, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden, vergleichbar sind. Deshalb ist die Qualität der Präparation für die zugelassene und die beiden Testmethoden gleich.

DIAGNOSTISCHE ÜBEREINSTIMMUNG

Diese Analyse vergleicht die Diagnose von Objektträgern, die mit der jeweiligen Methode hergestellt wurden. Da diese Daten von Split-Samples stammen, basieren die Diagnosematrizen der Tabellen 22 und 23 auf gepaarten Proben, wobei jede Präparationsmethode des Testobjektträgers (PrepMate® Methode und manuelle Methode) mit der zugelassenen PrepStain® Methode verglichen wird. Idealerweise ist die Diagnose für Objektträger, die mit zwei Methoden hergestellt wurden, dieselbe. Dies wird durch die Anzahl der Objektträger mit identischer Diagnose dargestellt, die auf der Hauptdiagonalen jeder Tabelle stehen.

Die erste Messung der Übereinstimmung ist der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen und die entsprechenden exakten 95 %igen Konfidenzintervalle. Die zweite Messung der Übereinstimmung wird aus der Kappa-Statistik erworben, die für jeden Vergleich berechnet und getestet wurde. Der Test bestimmt, ob die Übereinstimmung der beiden Methoden größer ist als durch Zufall alleine erwartet würde. Da die Beobachtungen geordnet sind, ist es wichtig, Beobachtungen zu haben, die nahe an oder auf der Hauptdiagonalen liegen. Die gewichtete Kappa-Statistik bevorzugt Beobachtungen, die auf oder nahe an der Hauptdiagonalen der Tabelle liegen.

VERGLEICH DER ZUGELASSENEN PREPSTAIN® METHODE UND DER PREPMATE® METHODE

In Tabelle 22 ist die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen 367 (2+334+8+6+5+11+1) und der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen 0,9107 (367/403) mit exakten 95 %igen Konfidenzintervallen von 0,8785 bis 0,9366.

Falls unbefriedigende Objektträger von der Tabelle durch Löschen der ersten Reihe und der ersten Spalte ausgeschlossen werden, bleiben noch 397 Objektträger. Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen ist 0,9194 (365/397) mit 95 %igen Konfidenzgrenzen von 0,8881 bis 0,9442.

Die Ergebnisse der Tabelle 22 zeigen, dass die zugelassene PrepStain® Methode und die PrepMate® Methode einen großen Anteil von Objektträgern mit diagnostischer Übereinstimmung aufweisen, wie die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen der Tabelle angibt. Außerdem gibt die gewichtete Kappa-Analyse an, dass die Übereinstimmung viel größer war, als dem Zufall alleine hätte zugeschrieben werden können.

Tabelle 22 Kreuztabellierung der Diagnosen mit der PrepStain® und der PrepMate® Methode

	Diagnose der PrepStain® Methode									
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Gesamt
Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Gesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

VERGLEICH DER ZUGELASSENEN PREPSTAIN® METHODE UND DER MANUAL METHOD

In Tabelle 23 ist die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen 353 (3+315+6+10+7+11+1). Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen ist 0,8759 (353/403). Die exakten binominalen 95%igen Vertrauensgrenzen dieses Anteils liegen zwischen 0,8397 bis 0,9065.

Falls unbefriedigende Objektträger von der Tabelle durch Löschen der ersten Reihe und der ersten Spalte ausgeschlossen werden, bleiben noch 398 Objektträger. Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen ist 0,8794 (350/398) mit 95 %igen Vertrauensgrenzen von 0,8433 bis 0,9097. Die Ergebnisse der Tabelle 23 zeigen, dass die zugelassene PrepStain® Methode und die Manual Method einen großen Anteil von Objektträgern mit diagnostischer Übereinstimmung aufweisen, wie die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen der Tabelle angibt. Außerdem gibt die gewichtete Kappa-Analyse an, dass die Übereinstimmung viel größer war, als dem Zufall alleine hätte zugeschrieben werden können. Deshalb ist die Qualität der Präparation für die zugelassene und die beiden Testmethoden gleich.

Tabelle 23 Kreuztabellierung der Diagnosen mit der PrepStain® Methode und der Manual Method

	Diagnose der PrepStain® Methode									
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Gesamt
Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Gesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ADÄQUATHEIT DER OBJEKTRÄGER

Die Adäquatheit der Objekträger wurde für jede Präparationsmethode beurteilt. Die Daten wurden mit einem zweiseitigen McNemar Test¹⁸ analysiert.

In Tabelle 24 werden die Ergebnisse der Adäquatheit des Vergleichs der zugelassenen PrepMate® Methode und der PrepMate® Methode dargestellt.

Tabelle 24 Adäquatheit der Ergebnisse für die Objekträger der PrepMate® Methode und der PrepStain® Methode

Ergebnisse der PrepStain® Methode				
Ergebnis der PrepMate Methode	SAT oder SBLB	UNSAT		
	398	3	401	
	0	2	2	
			398	5
			403	

In Tabelle 25 werden die Ergebnisse der Adäquatheit des Vergleichs der zugelassenen PrepStain® Methode und der *Manual Method* dargestellt.

Tabelle 25 Adäquatheit der Ergebnisse für die Objekträger der PrepStain® Methode und der *Manual Method*

Ergebnisse der PrepStain® Methode				
Ergebnis der Manual Method	SAT oder SBLB	UNSAT		
	398	2	400	
	0	3	3	
			398	5
			403	

In diesen zwei Vergleichen wurde gezeigt, dass sich die PrepMate® Methode und die *Manual Method* in Bezug auf die Adäquatheit der Objekträger nicht von der zugelassenen PrepStain® Methode unterscheiden.

DIRECT-TO-VIAL STUDIE

Nachdem das PrepStain® System von der FDA zugelassen wurde, führte TriPath Imaging eine große, multizentrische Studie mit dem PrepStain® System durch, in der es wie in Verwendungszweck vorgesehen mit Direct-to-vial-Proben benutzt wurde. Die vorher durchgeführten Studien benutzten eine Split-Sample-Methode, bei der die Probe zuerst für die Präparation eines herkömmlichen Objekträgers für einen Pap-Abstrich benutzt wurde und der Rest der Probe in die SurePath® Sammel Flüssigkeit gegeben und mit dem PrepStain® System verarbeitet wurde, um einen SurePath® Objekträger herzustellen. Es ist allgemein bekannt, dass ein Split-Sample-Design die wahre Leistungsfähigkeit des Tests unterschätzt, der mit dem verbliebenen Zellmaterial durchgeführt wird¹².

Diese Studie verglich die Leistungsfähigkeit von SurePath® Objekträger, die von Direct-to-vial-Proben hergestellt wurden, mit herkömmlichen Pap-Abstrichen aus einer historischen Kohorte. Die mit SurePath® erhaltenen Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen einer Gruppe von herkömmlichen Pap-Abstrichen verglichen. Speziell untersuchte diese Studie, ob SurePath® Objekträger den Nachweis von hochgradigen squamösen intraepithelialen Läsionen (HSIL), Adenokarzinomen in situ und Krebs (HSIL+) verbesserten. Für die Populationen beider Objekträger wurde alles zur Verfügung stehende Biopsiematerial gesammelt.

Die SurePath® Population bestand aus 58.580 Objekträgern, die prospektiv von 57 Kliniken gesammelt wurden, die beinahe 100 % von der herkömmlichen Probenentnahme mit Pap-Abstrichen auf die SurePath® Probenentnahme umgestellt hatten. Die Proben von diesen Kliniken wurden zur Verarbeitung an drei klinische Zentren weitergeleitet.

Die herkömmliche Population bestand aus 58.988 Objekträgern aus denselben Kliniken wie die SurePath® Objekträger. Die Sammlung dieser historischen Population begann mit dem jüngsten Objekträger, bevor die Kliniken auf SurePath® umstellten, und ging dann zurück, bis in allen Kliniken die Anzahl der herkömmlichen Population ungefähr der Anzahl der SurePath® Objekträger-Population entsprach.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten für die SurePath® Objekträger eine Nachweisrate von 405/58.580 verglichen mit 248/58.988 für die herkömmlichen Objekträger, was zu einer Nachweisrate von 0,691 % respektive 0,420 % führt (siehe Tabelle 26). Für diese klinischen Zentren und diese Studienpopulationen weist das auf eine Zunahme von 64,4 % ($p < 0,00001$) beim Nachweis der HSIL+ Läsionen für die SurePath® Objekträger hin.

Tabelle 26 Vergleich der Nachweisraten nach Zentren

HSIL+

Zen-trum	Herkömmlich			SurePath®		
	Gesamt	HSIL+	Prozent (%)	Gesamt	HSIL+	Prozent (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7293	13	0,178	7169	27	0,377
Ge-samt	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Zen-trum	Herkömmlich			SurePath®		
	Gesamt	LSIL+	Prozent (%)	Gesamt	LSIL+	Prozent (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7293	99	1,357	7169	127	1,772
Ge-samt	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Zen-trum	Herkömmlich			SurePath®		
	Gesamt	ASCUS+	Prozent (%)	Gesamt	ASCUS+	Prozent (%)
1	41.274	1439	3,486	40.735	2612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7293	276	3,784	7169	285	3,975
Ge-samt	58.988	2062	3,496	58.580	3586	6,122

Unbefriedigend

Zen-trum	Herkömmlich			SurePath®		
	Gesamt	UNSAT+	Prozent (%)	Gesamt	UNSAT+	Prozent (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7293	20	0,274	7169	4	0,056
Ge-samt	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Hinweis: Es werden Variationen in der Leistung der unterschiedlichen Zentren erwartet. Jedes Labor muss die Qualität seiner Arbeit sorgfältig überprüfen.

VERFAHREN

Das komplette Verfahren zur Präparation der SurePath® Objekträger ist im Benutzerhandbuch des PrepStain® Systems angegeben.

BIBLIOGRAPHIE

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carriaco C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NAME UND SITZ DES UNTERNEHMENS

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
PrepStain® Information: 1-800-426-2176 oder 336-9707 • Fax: 336-222-8819.
U.S. Patent-Nummern: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Kanadische Patent-Nummern: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Japanische Patent-Nummern: 2837076, 2781513.
Europäische Patent-Nummern: 0590504, 0590447, 0590506B.
Andere US-amerikanische und ausländische Patente angemeldet.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

©2008 TriPath Imaging, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

USAGE PRÉVU

Le système PrepStain®, précédemment le système AutoCyte® PREP, est un procédé pour préparations cellulaires liquides en couche mince. Le système PrepStain® produit des lames SurePath® destinées à remplacer les Pap smears gynécologiques conventionnels. Les lames SurePath® (précédemment lames AutoCyte® PREP) sont destinées au dépistage et au décellement du cancer du col de l'utérus, des lésions pré-cancéreuses, des cellules atypiques et de toutes les autres catégories cytologiques telles que définies dans la publication « *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses* ». ^{1, 19}

APERÇU ET EXPLICATION DE LA MÉTHODE

Le système PrepStain® convertit une suspension liquide d'un échantillon de cellules cervicales en une couche cellulaire mince homogène et colorée tout en maintenant les amas cellulaires important pour le diagnostic. ^{2-7, 9, 10} Ce procédé comprend la préservation des cellules, la randomisation, l'enrichissement du matériel de diagnostic, le pipetage, la sédimentation, la coloration et la mise en place d'une lamelle permettant ainsi de créer une lame SurePath® à utiliser dans le cadre du dépistage cytologique de routine et la catégorisation, telle que définie par le système Bethesda.¹ La lame SurePath® présente une population bien conservée de cellules colorées dans un cercle de 13mm diamètre. Les artefacts de dissémination, d'obstruction par des éléments inflammatoires ou par des amas cellulaires opaques et l'excès de débris sont largement éliminés. Le nombre de granulocytes est nettement réduit, ce qui permet une meilleure visualisation des cellules épithéliales, des cellules pertinentes d'un point de vue diagnostique et des agents infectieux.

Le processus SurePath® commence par un prélèvement gynécologique effectué par un personnel médical qualifié à l'aide d'un dispositif de prélèvement de type « brosse » (par ex., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Pays-Bas) ou une combinaison d'une spatule en plastique/broche endocervicale (par ex., Cytobrush® Plus GT et la spatule Pap Perfect®, Medscand (Etats-Unis) Inc., Trumbull, CT) à tête(s) amovible(s). À la place d'étaler les cellules prélevées par le dispositif d'échantillonnage sur une lame de verre, les têtes des dispositifs de prélèvement, détachées du manche, sont placées dans un flacon de SurePath® Preservative Fluid. Le flacon est refermé, étiqueté et envoyé au laboratoire avec les documents nécessaires à son traitement. Les têtes des dispositifs de prélèvement ne sont jamais retirées du flacon contenant la solution de conservation où se trouve l'échantillon prélevé.

Au laboratoire, l'échantillon préservé est vortexé puis transféré sur le PrepStain® Density Reagent. Une phase d'enrichissement, consistant en la sédimentation par centrifugation au travers du Density Reagent, supprime partiellement de l'échantillon, les débris inutiles au diagnostic et l'excès de cellules inflammatoires. Après centrifugation, les cellules formant une pastille sont remises en suspension, mélangées et transférées vers une chambre de décantation PrepStain® montée sur une lame SurePath® PreCoat. Les cellules sédimentent par gravité, puis elles sont colorées à l'aide d'un procédé de coloration « Papanicolaou modifié ». La lame est nettoyée au xylène ou avec un substitut du xylène et recouverte d'une lamelle. Les cellules, présentées dans un cercle de 13mm de diamètre, sont examinées au microscope par des cytotechniciens et des pathologistes formés, ayant accès à d'autres informations pertinentes de l'historique médical du/de la patient(e).

LIMITATIONS

- Les prélèvements gynécologiques en vue d'une préparation à l'aide du système PrepStain® doivent être effectués avec un dispositif de type « brosse » ou une combinaison d'une spatule en plastique/broche endocervicale (par ex., Cytobrush® Plus GT et la spatule Pap Perfect®, Medscand (Etats-Unis) Inc., Trumbull, CT) à tête(s) détachable(s) conformément à la procédure de prélèvement standard fournie par le fabricant. Ne pas utiliser de spatules en bois avec le système PrepStain®. Les combinaisons de spatule en plastique/broche endocervicale qui ne sont pas amovibles ne doivent pas être utilisées avec le système PrepStain®.
- Une formation par des personnes agréées est une condition préalable pour la production et l'évaluation de lames SurePath®. Les cytotechniciens et les pathologistes seront formés à l'évaluation morphologique sur les lames SurePath®. La formation inclura un examen de compétences. Les clients de laboratoire seront munis de jeux de diapositives et de matériel d'essai à objectif pédagogique. TriPath Imaging®, Inc. participera également à la préparation des diapositives pédagogiques des populations patient propres à chaque client.
- Le fonctionnement correct du système PrepStain® requiert l'utilisation exclusive des accessoires pris en charge par TriPath Imaging, ou recommandés par TriPath Imaging, à utiliser avec le système PrepStain®. Les accessoires et consommables usés doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur dans le pays.
- Tous les accessoires et consommables sont à usage unique et ne peuvent être réutilisés.

Réactifs



À usage diagnostique in vitro. N'utiliser qu'en laboratoire.

Avertissements



SurePath® *Preservative Fluid* contient une solution d'alcool dénaturé. Le mélange contient de petite quantité de méthanol et d'isopropanol. Ne pas ingérer.



PrepStain® *Density Reagent* contient de l'azide de sodium. Ne pas ingérer. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb ou le cuivre des canalisation en formant un complexe hautement explosif. Lors de l'évacuation de ce produit rincer à grande eau pour éviter la formation de ce complexe. Pour de plus amples informations se référer à la publication DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, issued by the Centers for Disease Control. Voir le site web : www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Le mélange de coloration cytologique PrepStain® EA/OG contient de l'alcool. Toxique si ingéré. Ne pas respirer les vapeurs. Utiliser dans un environnement correctement ventilé. Éviter les contacts avec la peau et les yeux. Hautement inflammable.

PRÉCAUTIONS

- Les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées et toutes les procédures concernant l'emploi du système PrepStain® doivent être rigoureusement observées.
- Les réactifs doivent être conservés à température ambiante (15 ° à 30 °C) et utilisés avant leur date de péremption pour garantir une efficacité correcte. Les conditions de conservation de SurePath® *Preservative Fluid* sans échantillons cytologiques, sont de 36 mois à compter de la date de fabrication, à température ambiante (15 à 30 °C). La limite de conservation de SurePath® *Preservative Fluid* avec échantillons cytologiques est de 6 mois à température réfrigérée (2 à 10 °C), ou de 4 semaines à température ambiante (15 à 30 °C).
- Éviter les projections ou l'émission d'aérosols. Les utilisateurs doivent porter des gants, des lunettes et des vêtements de protection appropriés.
- L'efficacité antimicrobienne de SurePath® *Preservative Fluid* a été testée et démontrée contre les organismes *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Aspergillus niger*. Les échantillons de fluide de conservation SurePath® inoculés avec 10⁶ de CFU/ml de chacune des espèces ne présentent aucune évolution après 14 jours (28 jours dans le cas du *Mycobacterium tuberculosis*) après incubation dans des conditions normales. Les précautions universelles de prudence en matière de manipulation de liquide biologique doivent toujours être de rigueur.
- Le manque de suivi des procédures recommandées telles qu'elles ont été présentées dans la notice d'entretien du système PrepStain® peuvent compromettre son efficacité.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Se référer à la notice d'entretien du système PrepStain® pour des informations exhaustives concernant les réactifs, composants et accessoires. Le matériel énuméré ci-dessous ne sont pas tous nécessaires à la préparation manuelle des lames SurePath® (sans utilisation de PrepStain® *Instrument*).

Matériel fourni

- PrepStain® *Instrument*
- SurePath® *Preservative Fluid Collection Vial* (comprenant SurePath® *Preservative Fluid*)
- Dispositif(s) de prélèvement cervical à tête(s) amovible(s)
- PrepStain® *Density Reagent*
- PrepStain® *Syringing Pipettes*
- PrepStain® *Settling Chambers*
- Cytology *Stain Kit*
- Lames SurePath® *PreCoat*
- Centrifuge Tubes (Tubes à centrifuger)
- Slide and Tube Racks (Portoirs pour tubes et lames)
- Disposable Transfer and Aspirator Tips (cônes de pipetage et de transfert jetables)

Matériel nécessaire non fourni

- Mélangeur vortex
- Eau déionisée (pH de 7,5 à 8,5)
- Alcool isopropyle et alcool qualité « réactif »
- Agents de nettoyage, support de montage, lamelles couvre-objet

Conservation

Les conditions de conservation de SurePath® *Preservative Fluid* sans échantillons cytologiques, sont de 36 mois à compter de la date de fabrication, à température ambiante (15 à 30 °C).

La limite de conservation de SurePath® *Preservative Fluid* avec échantillons cytologiques est de 6 mois à température réfrigérée (2 à 10 °C), ou de 4 semaines à température ambiante (15 à 30 °C).

INTERPRÉTATION DU DIAGNOSTIC ET JUSTESSE DE LA PRÉPARATION

Après la formation agréée TriPath Imaging de l'utilisateur sur le système PrepStain® et les lames SurePath®, les critères de diagnostic cytologique du système Bethesda actuellement utilisés dans les laboratoires de cytologie pour les Pap smears conventionnels sont

applicables aux lames SurePath®.¹ De nouvelles directives recommandées dans le système de rapports Bethesda 2001 traitent des préparations basées sur le liquide et définissent de quelle façon déterminer une cellularité adéquate spécialement pour ces préparations.

En l'absence de cellules anormales, une préparation est considérée insatisfaisante si au moins l'une des conditions suivantes est réunie :

- (1) Nombre insuffisant de cellules de diagnostic (inférieur à 5 000 cellules squameuses par préparation). Les procédures suivantes sont celles recommandées pour estimer la numération des cellules épithéliales squameuses bien préservées sur les lames SurePath® :
 - Pour chaque modèle de microscope utilisé lors du dépistage, examiner le guide du fabricant ou contacter le fabricant du microscope pour déterminer la zone de champ angulaire utilisant l'oculaire préféré et l'objectif 40x. Autrement, calculer la zone de champ à l'aide d'un hémocytomètre ou d'une échelle de mesure pour lames microscopiques similaire (zone de champ = πr^2 , r étant le rayon du champ).
 - Le nombre moyen de cellules par champ d'objectif de 40x doit être déterminé en divisant zone de dépôt cellulaire approximative de 130 mm² de la lame SurePath® par la zone de champ du microscope donné. Puis en divisant le résultat obtenu par la valeur de 5000 cellules on obtient le nombre recommandé minimum de cellules épithéliales dans un champ angulaire d'objectif de 40x. Enregistrer ce nombre et le conserver pour être utilisé comme référence de routine par le cytotechnicien. Les directives de Bethesda 2001 indiquant le nombre approximatif de cellules par champ pour une préparation de 13 mm.
 - Un minimum de dix champs doit être compté horizontalement ou verticalement le long du centre du diamètre de la préparation.
 - L'évaluation macroscopique de la densité visuelle de la préparation colorée peut être utilisée, comme moyen d'accès pratique à la cellularité, pour s'assurer de la justesse des séquences de production de la préparation. Il n'existe toutefois pas de substitut pour l'évaluation microscopique primaire du cytotechnicien lors du processus de dépistage.
- (2) 75 % des composants cellulaires ou plus sont masqués par l'inflammation, le sang, les bactéries, les mucosités ou les artefacts, lesquels conduisent à une conclusion anticipée de l'interprétation cytologique de la lame.

Toutes observations de dépistage anormales ou discutables doivent être soumises à un pathologiste qui devra les étudier et poser un diagnostic. Ce pathologiste devra noter toutes les modifications morphologiques cellulaires importantes au niveau du diagnostic.

CARACTÉRISTIQUES D'EFFICACITÉ : RAPPORT D'ÉTUDES CLINIQUES

PREMIÈRE ÉTUDE SUR ÉCHANTILLON FRACTIONNÉ

TriPath Imaging a conduit une étude clinique de cohorte, en aveugle, sur échantillons fractionnés (split samples) par paires à de multiples sites pour comparer les résultats de diagnostic des lames SurePath® produites par le système PrepStain® avec les résultats de diagnostic des *Pap smears* préparés selon la méthode conventionnelle. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'efficacité de SurePath® comparé au Pap smear conventionnel en matière de détection du cancer du col de l'utérus, de lésions pré-cancéreuses et des cellules atypiques chez diverses populations de patientes et divers laboratoires. La qualité des lames (satisfaisante ou insatisfaisante) fut également évaluée dans le cas des deux préparations.

En accords avec les recommandations issues du document de la FDA chapitre « Points à prendre en compte », traitant des dispositifs de cytologie cervicale, chaque Pap smear conventionnel fut préparé en premier, puis le résidu du spécimen demeurant sur le dispositif d'échantillonnage de type « brosse » fut déposé dans un flacon de prélèvement SurePath® *Preservative Fluid Collection Vial*.

Après le transport au laboratoire, les suspensions cellulaires préservées furent traitées en fonction du protocole du système PrepStain®. La lame SurePath® résultante et la lame de *Pap smear* conventionnel correspondante furent testées manuellement et indépendamment au moyen de catégories de diagnostic cohérentes par rapport au système Bethesda. À chaque site, un pathologiste a évalué toutes les lames anormales.

En accord avec la méthode décrite par Shatzkin¹¹, cette étude a utilisé un pathologiste de référence indépendant d'un site de référence désigné, qui passait en revue tous les cas anormaux et les cas discordants, ainsi que les cas avec réparation cellulaire et 5 % des cas normaux de tous les centres pour établir une « vérité » diagnostique pour chaque cas.

CARACTÉRISTIQUES PATIENT

L'âge des femmes participant à l'étude (dont 772 étaient post-ménopausées) variait de 16 à 87 ans. Sur les 8807 patientes représentées dans l'étude, 1059 présentaient des antécédents de Pap smears anormaux. L'ensemble de la population des patientes étudié se composait des groupes ethniques suivants : Caucasiens (44 %), noirs (30 %), asiatiques (12 %), hispaniques (10 %), américain natif (3%) et autres (1 %).

Des exclusions furent faites pour documents incorrects, patients en dessous de 16 ans, patients présentant des hystérectomies ainsi que les spécimens insatisfaisants et inappropriés du point de vue cytologique. Un effort a été fourni pour inclure autant de cas de cancer du col de l'utérus et de maladies pré-cancéreuses que possible en accédant à des patientes peu souvent testées présentant un risque élevé et à des patientes redirigées.

Sur l'ensemble des 10335 cas, 9046 furent acceptés et évalués par huit différents sites d'étude. Sur ces 9046 cas, 8807 ont satisfait aux exigences de qualité de la préparation du système Bethesda et étaient disponibles pour un diagnostic complet des deux préparations.

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Le but de l'étude clinique était de comparer l'efficacité des lames SurePath® produites par le système PrepStain® aux Pap smears préparés de manière conventionnelle. Les lames

pour les deux types de préparation furent classifiées selon le critère du système Bethesda. Le protocole d'étude fut biaisé en faveur du Pap smear conventionnel parce qu'un Pap smear conventionnel était toujours préparé en premier, ce qui restreignit le résidu SurePath® qui demeurerait sur le dispositif de type « brosse » (la portion de l'échantillon qui aurait normalement été jetée).¹² L'usage prévu du test SurePath® est une mise en flacon directe en flacons où toutes les cellules prélevées sont accessibles pour le système PrepStain®.

Pour comparer les sensibilités des lames SurePath® et du Pap smear conventionnel lors de la lecture manuelle, le niveau d'anomalie des cas fut déterminé par le pathologiste de référence et comparé aux diagnostics effectués par les sites de l'étude. Le pathologiste de référence indépendant a basé le diagnostic de référence sur le diagnostic le plus anormal de l'une ou l'autre préparation de lame. Ce résultat fut utilisé comme « vérité » ou valeur de référence pour la comparaison des résultats du site à l'aide de la préparation du système PrepStain® des lames SurePath® contre la préparation de Pap smear conventionnelle. L'hypothèse nulle selon laquelle les sensibilités des deux méthodes de préparation de lames sont identiques fut soumise au test χ^2 McNemar destiné aux données appariées.¹³ Dans ce test statistique, les divergences de résultats des deux méthodes de préparation furent comparées.

Le tableau 1 représente une comparaison directe des résultats des sites pour les lames SurePath® par rapport aux lames conventionnelles pour les catégories de traitement à diagnostic : Dans les Limites Normales (WNL), Cellules Atypiques Squameuses à Signification Indéterminée/Cellules Glandulaires de Signification Indéterminée (ASCUS/AGUS), Lésion Squameuse Intraépithéliale de Faible grade (LSIL), Lésion Squameuse Intraépithéliale de Haut grade (HSIL) et Cancer (CA).

Tableau 1 Premier étude d'échantillon fractionné : 8807 échantillons appariés — Comparaison des résultats du site — Aucun pathologiste de référence

Résultats par site								
No. de Site	Type de lame	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1,514	47	4	81	24	0	1,670
	CN	1,560	33	6	40	31	0	1,670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1,302	60	2	19	5	0	1,388
	CN	1,326	37	2	19	4	0	1,388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1,272	179	6	83	35	1	1,576
	CN	1,258	209	9	68	30	2	1,576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1,227	61	3	86	44	2	1,423
	CN	1,209	57	0	94	61	2	1,423
Total	SP	7,759	509	36	342	135	26	8,807
	CN	7,768	531	39	271	177	21	8,807

SP = SurePath®

CN = Conventionnelle

Le tableau 2 représente une comparaison directe des résultats des sites pour la méthode de préparation SurePath® vs. la préparation de Pap smear conventionnelle et ceci pour toutes les catégories de traitement diagnostique.

Tableau 2 Première étude d'échantillon fractionné : 8807 échantillons appariés — Comparaison des résultats des sites — Aucun pathologiste de référence

		Pap Smear préparé de manière conventionnelle						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	WNL	7,290	361	20	63	24	1	7,759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7,768	531	39	271	177	21	8,807

Aucun résultat de pathologiste de référence indépendant ne sont reflétés dans le tableau 1 ou 2.

Tableau 3 Première étude d'échantillon fractionné : Comparaison des résultats des sites pour les cas désignés par la méthode de référence ASCUS/AGUS — Analyse d'erreur discordante

		Lame préparée de manière conventionnelle	
		Réussite	Erreur
SurePath® Slide préparée au PrepStain®	Réussite	113	205
	Erreur	180	229
		293	434

Réussite = ASCUS/AGUS
Erreur = WNL & Reactive/Reparative

Résultat du test McNemar : $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Erreurs Conventiennelle : 205
Erreurs SurePath® : 180

Le tableau 3 montre les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme étant ASCUS ou AGUS. Cette évaluation permet l'analyse des erreurs discordantes pour évaluer la sensibilité des méthodes de la conception de l'étude à échantillon fractionné. Les erreurs incluent WNL et *Reactive/Reparative*. Etant donné que la valeur-p déterminée par le test McNemar dépassait 0,05, les résultats de Pap smear SurePath® et conventionnel étaient équivalents.

Tableau 4 Première étude d'échantillon fractionné : Comparaison des résultats des sites pour les cas désignés par la méthode de référence LSIL — Analyse d'erreur discordante

		Lame préparée de manière conventionnelle	
		Réussite	Erreur
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	140	63
	Erreur	54	86
		194	149

Réussite = LSIL
Erreur = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS

Résultat du test McNemar : $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
Erreurs Conventiennelle : 63
Erreurs SurePath® : 54

Le tableau 4 montre les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme étant LSIL. Les erreurs incluent WNL, *Reactive/Reparative* et ASCUS/AGUS. Comme pour ASCUS/AGUS, la sensibilité des deux méthodes dans l'étude d'échantillon fractionné était équivalente du point de vue statistique, avec une valeur-p en excès de 0,05.

Tableau 5 Première étude d'échantillon fractionné : Comparaison des résultats des sites pour les cas désignés par la méthode de référence HSIL + Analyse d'erreur discordante (LSIL n'est pas une erreur)

		Lame préparée de manière conventionnelle	
		Réussite	Erreur
SurePath® Slide préparée au PrepStain®	Réussite	160	28
	Erreur	36	38
		196	66

Réussite = HSIL +
Erreur = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS

Résultat du test McNemar : $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$
Erreurs Conventiennelle : 28
Erreurs SurePath® : 36

Le tableau 5 montre les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme étant HSIL+. Dans cette comparaison, LSIL ne fut pas considéré comme erreur mais plutôt comme divergence.^{10,14,15} L'erreur comprend WNL, Reactive/Reparative et ASCUS/AGUS. L'analyse des erreurs discordantes a démontré une équivalence statistique des méthodes dans l'étude d'échantillon fractionné.

Tableau 6 Première étude d'échantillon fractionné : Analyse d'erreurs discordantes pour les Cas Cancer (HSIL n'est pas une erreur ; LSIL est considéré comme erreur)

		Lame préparée de manière conventionnelle	
		Réussite	Erreur
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	19	2
	Erreur	5	1
		24	3

Réussite = Cancer
Erreur = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS & LSIL

Résultat du test McNemar : $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Erreurs Conventiennelle : 2
Erreurs SurePath® : 5

Le tableau 6 montre les résultats (tous sites confondus) pour les cas jugés être de type cancer par la méthode de référence. Les erreurs incluent WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS et LSIL. L'analyse de sensibilité des erreurs discordantes montre une équivalence statistique des méthodes. Ces 27 cas de cancer furent inclus dans l'étude de réévaluation. Ces données se trouvent dans le tableau 9.

Tableau 7 Première étude d'échantillon fractionné : Comparaison des résultats des sites pour les cas désignés par la méthode de référence HSIL+ — Analyse d'erreur discordante (LSIL fut considéré comme erreur dans cette analyse)

		Lame préparée de manière conventionnelle	
		Réussite	Erreur
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	94	33
	Erreur	67	68
		161	101

Réussite = (HSIL+)
Erreur = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Résultat du test McNemar : $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Erreurs Conventiennelle : 33
Erreurs SurePath® : 67

Le tableau 7 montre les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme étant HSIL+. Les erreurs incluent WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS et LSIL. Bien qu'elle ne soit pas en accord avec le protocole original de l'étude¹⁰, une comparaison statistique des méthodes fut effectuée quand LSIL était considéré comme erreur de diagnostic contre un cas déterminé HSIL+ par le seul pathologiste de référence indépendant. Dans cette comparaison statistique des sensibilités de diagnostic, quand LSIL est considéré comme erreur, contrairement à une divergence mineure, les lames SurePath® préparées à l'aide du système PrepStain® n'équivalent pas au Pap smear préparé de manière conventionnelle en matière de décellement de l'anormalité HSIL+ dans l'étude d'échantillon fractionné.

RÉÉVALUATION ANONYME DES CAS DE HSIL+

Une nouvelle évaluation fut conduite pour déterminer si les résultats étaient affectés par la qualité de la préparation ou la subjectivité de l'interprétation. Pour évaluer les 262 cas qui furent diagnostiqués comme HSIL+ dans l'étude de départ (tableau 7), une évaluation supplémentaire fut effectuée après la mise en oeuvre d'un nouveau programme de formation pour spécialistes en cytologie, conçu pour améliorer la stabilité de l'interprétation entre les groupes de diagnostic et le système Bethesda. Ces cas de HSIL+ furent à nouveau masqués dans un groupe de réévaluation consistant en un total de 2438 spécimens préparés à l'aide du même protocole d'échantillon fractionné. Les résultats des sites participant à l'étude pour les deux préparations furent ensuite comparés à une

nouvelle valeur de référence qui nécessita l'accord d'au moins deux des trois pathologistes de référence indépendants quant au diagnostic cytologique le plus anormal.

Dans le procédé de référence pour la réévaluation, les deux préparations de lames des cas discordants (lames SurePath® préparées au PrepStain® et les lames préparées de manière conventionnelle) furent à nouveau testées par un deuxième cytotechnicien et les anomalies nouvellement identifiées furent ajoutées à celles du dépistage initial. Trois cytopathologistes de référence évaluèrent ensuite tous les cas discordants à l'aide d'un protocole anonyme. Cette méthode de référence plus stricte a réduit le nombre de cas de référence HSIL+ de 262 dans l'étude de départ à 209 dans la réévaluation. Les 53 différences de cas s'expliquent de la manière suivante :

48 cas furent diagnostiqués par la méthode de référence la plus stricte comme LSIL ou moins grave ; la qualité de 3 cas fut jugée insatisfaisante au moment de la réévaluation ; et les 2 cas restant ne furent pas disponibles pour une évaluation dans l'étude de réévaluation anonyme.

Tableau 8 Étude de réévaluation : Analyse des erreurs discordantes des 209 cas initiaux de HSIL+ réévalués selon le critère de référence le plus stricte et impliquant trois pathologistes de référence indépendants

		Lame préparée de manière conventionnelle		
		Réussite	Erreur	
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	153	26	179
	Erreur	24	6	30
		177	32	209

Réussite = HSIL+

Erreur = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Résultat du test McNemar : $\chi^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Erreurs Conventiennelle : 26

Erreurs SurePath®: 24

Le tableau 8 montre les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme étant HSIL+. Les erreurs incluent WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS et LSIL. Dans cette comparaison, LSIL fut considéré comme une erreur de diagnostic contre un cas déterminé être HSIL+ par le pathologiste de référence indépendant. La comparaison des sensibilités de diagnostic a révélé une équivalence statistique entre les deux méthodes.

Tableau 9 Étude de réévaluation : Analyse d'erreurs discordantes pour les Cas Cancer (HSIL n'est pas une erreur ; LSIL est considéré comme erreur)

		Lame préparée de manière conventionnelle		
		Réussite	Erreur	
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	32	3	35
	Erreur	3	0	3
		35	3	38

Réussite = Cancer

Erreur = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Résultat du test McNemar : $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Erreurs Conventiennelle : 3

Erreurs SurePath®: 3

Le tableau 9 montre les résultats pour les cas jugés être de type cancer par la nouvelle méthode de référence (tous sites confondus). Les erreurs incluent WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS et LSIL. Une erreur résultant de l'interprétation d'une LSIL. Toutes les autres erreurs impliquées dans l'interprétation des lames comme ASCUS/AGUS ou WNL. L'analyse de sensibilité des erreurs discordantes montre une équivalence statistique des méthodes.

La réévaluation anonyme comprenait 2097 cas nouveaux qui furent utilisés pour masquer de nouveau les échantillons initiaux de HSIL+. L'analyse et la comparaison des préparations de ces cas nouveaux est décrite dans le tableau 10.

Tableau 10 Étude de réévaluation : Comparaison de 2097 résultats provenant directement de site — Aucun pathologiste de référence

		Pap Smear préparé de manière conventionnelle						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	WNL	1,561	128	0	47	30	0	1,766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1,710	203	3	104	70	7	2,097

Sur les 2097 cas nouveaux décrits ci-dessus, 77 furent diagnostiqués HSIL+ par les pathologistes de référence. Le tableau 11 présente la l'analyse de sensibilités de ces 77 cas de HSIL+.

Tableau 11 Étude de réévaluation : Comparaison des résultats de tous les sites pour les cas désignés par la méthode de référence HSIL+ — Analyse d'erreur discordante (LSIL fut considéré comme erreur dans cette analyse)

		Lame préparée de manière conventionnelle		
		Réussite	Erreur	
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	Réussite	25	21	46
	Erreur	21	10	31
		46	31	77

Réussite = HSIL+

Erreur = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL

Résultat du test McNemar : $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Erreurs Conventiennelle : 21

Erreurs SurePath®: 21

L'analyse des erreurs discordantes du tableau 11 a révélé un nombre égal de HSIL+ manqués dans le cas des deux méthodes de préparation. Les erreurs incluent WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS et LSIL. Le test statistique a démontré une équivalence entre les deux méthodes dans la conception de l'échantillon fractionné, même quand LSIL est considérée comme contre une valeur de référence de HSIL+.

Le tableau 12 résume le diagnostic descriptif des résultats bénins des sites.

Tableau 12 Première étude d'échantillon fractionné : Aperçu des changements cellulaires bénins

Diagnostic descriptif (Nombre de patients : 8,807)	SurePath® Slide préparée avec PrepStain®		Lame préparée de manière conventionnelle	
	N	%	N	%
Changements cellulaires bénins				
*Infection :				
espèces <i>Candida</i>	440	5.0	445	5.1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1.3	202	2.3
Herpès	8	0.1	6	0.1
Gardnerella	85	1.0	44	0.5
espèces <i>Actinomyces</i>	6	0.1	2	<0.1
Bactéries (autres)	52	0.6	191	2.2
**Changements Reactive Reparative	424	4.8	319	3.6

* Pour la catégorie d'infection ci-dessus, les observations d'agents infectieux sont rapportées. Plus d'une classe d'organisme peut être représentée par cas.

** Les changements de reactive reparative comprenaient les changements de reactive associés à une inflammation, une vaginite atrophique, le rayonnement et l'emploi de DIU, de même que les réparations typiques impliquant les cellules de type squameuse, squameux métaplasique ou les cellules épithéliales prismatiques.

8807 cas au total ne comportaient aucune évaluation « insatisfaisante », soit aux sites d'étude, soit au site de référence. 239 échantillons supplémentaires furent jugés « insatisfaisants » par soit les sites d'étude soit le site de référence, soit par les deux, sur la base de l'une ou des deux préparations. Sur les 239 cas insatisfaisants, on a signalé que 151 avaient été effectués sur lames conventionnelles uniquement ; 70 sur SurePath® uniquement ; et qu'on avait observé que 18 étaient sur lames conventionnelles et SurePath®. Tous les cas insatisfaisants furent exclus de comparaison diagnostique par les catégories du système Bethesda, mais furent rajoutés pour la comparaison de qualité des préparations.

Les tableaux 13 à 16 montrent les résultats de qualité de préparation pour les sites.

Tableau 13 Première étude d'échantillon fractionné : Résultats sur la justesse de la préparation

Diagnostic descriptif (Nombre de patients : 9046)	SurePath® Slide préparée avec PrepStain®		Lame préparée de manière conventionnelle	
	N	%	N	%
Satisfaisant	7,607	84,1	6,468	71,5
Satisfaisant mais limité par :	1,385	15,3	2,489	27,5
Composant endocervical absent	1,283	14,2	1,118	12,4
Artefact séchant à l'air	0	0	17	0,2
Frottis épais	1	< 0,1	0	0
Sang virant à l'opaque	53	0,6	121	1,3
Inflammation masquée	102	1,1	310	3,4
Cellules épithéliales de type Squameuse peu abondantes	4	< 0,1	7	0,1
Cytolyse	10	0,1	11	0,1
Pas d'antécédents cliniques	0	0	0	0
Non spécifié	60	0,7	1,018	11,3
Insatisfaisant pour l'évaluation :	54	0,6	89	1,0
Composant endocervical absent	42	0,5	42	0,5
Artefact séchant à l'air	0	0	0	0
Frottis épais	0	0	2	< 0,1
Sang virant à l'opaque	7	0,1	6	0,1
Inflammation masquée	6	0,1	6	0,1
Cellules épithéliales de type Squameuse peu abondantes	6	0,1	0	0
Cytolyse	0	0	1	< 0,1
Pas d'antécédents cliniques	0	0	0	0
Non spécifié	37	0,4	32	0,5

Remarque : Certains patients avaient plus d'une catégorie.

Les autres cas non satisfaisants furent déterminés par le pathologiste de référence et le nombre total de résultats satisfaisants sont reflétés dans le tableau. Dans le tableau, SAT = Satisfaisant, SBLB = Satisfaisant mais limité par (une quelconque pathologie ou infection), et INSAT = Insatisfaisant.

Tableau 14 Première étude d'échantillon fractionné : Aperçu des résultats de qualité de la préparation, tous sites d'étude confondus

		Lame préparée de manière conventionnelle			
		SAT	SMLP	INSAT	
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	SAT	5,868	1,693	46	7,607
	SBLB	579	772	34	1,385
	INSAT	21	24	9	54
		6,468	2489	89	9,046

INSAT : Résultat du test McNemar χ^2 $mc = 9,33$, $p = 0,0023$

SMLP : Résultat du test McNemar χ^2 $mc = 546,21$, $p = 0,0000$

Le tableau 14 montre les résultats d'une comparaison de qualité de la préparation des deux méthodes de préparation. Il y avait nettement moins de cas Insatisfaisant et SBLB avec les lames SurePath® en comparaison avec les lames conventionnelles.

Tableau 15 Première étude d'échantillon fractionné : Comparaison des résultats insatisfaisants venant des sites d'études cliniques et du site de référence.

		Lame préparée de manière conventionnelle		
		SAT	INSAT	
SurePath® Slide préparée avec PrepStain®	SAT	8,807	151	8,958
	INSAT	70	18	88
		8,877	169	9,046

Résultat du test McNemar χ^2 $mc = 29,69$, $p = 0,0000$

Le tableau 15 montre une comparaison des préparations satisfaisantes et insatisfaisantes des évaluations effectuées aux sites d'études comme au site de référence. Les lames SurePath® révèlent une réduction significative des cas insatisfaisants par rapport aux lames conventionnelles.

Tableau 16 Résultats de qualité de la préparation par site— Taux SMLP pour le composant endocervical (CEC)

Site	Cas	SMLP SurePath® aucun CEC N (%)	SMLP Conventionnelle aucun CEC N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1,712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1,395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1,695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1,448	207 (14,3)	210 (14,5)
Tous les sites	9,046	1,283 (14,2)	1,118 (12,4)

Le dépistage des cellules endocervicales (tableau 16) variait aux différents sites d'études. Dans l'ensemble, il y avait une différence de 1,8 % de dépistage des cellules endocervicales entre la méthode conventionnelle de Pap smear et la méthode SurePath®. Ceci est semblable aux études précédentes impliquant la méthodologie d'échantillon fractionné.^{16,17}

Les lames SurePath® produites par le système PrepStain® fournissent des résultats semblables aux Pap smears conventionnels dans les comparaisons d'échantillon fractionné chez diverses populations de patientes et dans divers laboratoires. Il y avait en outre nettement moins de cas Insatisfaisant et SBLB avec les lames SurePath® en comparaison avec les Pap smears conventionnels. La lame SurePath® peut ainsi être utilisée pour remplacer le Pap smear conventionnel pour le dépistement des cellules atypiques, des lésions pré-cancéreuses, du cancer du col de l'utérus et toutes les autres catégories cytologiques définies par le système Bethesda.

ÉVALUATION DE LA PRÉPARATION DE LAMES SUREPATH® À L'AIDE DE PREPMATE® ET DE LA MÉTHODE MANUELLE

TriPath Imaging a mené une étude clinique multicentrique de cohorte pour évaluer deux modifications du procédé de préparation des lames SurePath® homologué par le FDA. Les modifications du procédé homologué de préparation des lames SurePath® sont décrites ci-dessous :

- L'ajout de l'accessoire PrepMate® (méthode PrepMate®), qui automatise les étapes manuelles initiales du procédé de laboratoire PrepStain®. Le PrepMate® mélange et retire automatiquement le spécimen des flacons de conservateur SurePath® et il dépose le spécimen sur le PrepStain® Density Reagent dans un tube à essai.
- L'ajout de la méthode manuelle, selon laquelle une couche de suspension cellulaire est déposée manuellement sur la lame et colorée par le technicien de laboratoire, plutôt que d'utiliser l'instrument PrepStain® pour la suspension cellulaire et la coloration de la lame.

L'étude évaluée sur 400 cas est une comparaison « en aveugle » des deux méthodes pouvant être utilisées au lieu du procédé de préparation des lames SurePath® homologué préalablement. La comparaison se basait sur des critères morphologiques et qualitatifs appliqués aux lames préparées par chacune des méthodes.

Les principaux objectifs de l'étude consistaient à :

- Évaluer les aspects morphologiques et qualitatifs des lames SurePath® préparées par la méthode PrepMate® comparées avec les lames préparées selon la méthode homologuée d'utilisation du système PrepStain® (appelé la méthode PrepStain®).
- Évaluer les aspects morphologiques et qualitatifs des lames SurePath® préparées à l'aide de la méthode manuelle en comparaison avec les lames préparées selon la méthode homologuée PrepStain®.

Les objectifs supplémentaires de l'étude consistaient à :

- Déterminer si le taux de concordance entre la méthode homologuée PrepStain® et la méthode PrepMate® dépassait ce qui pourrait relever du fruit du hasard uniquement.
- Déterminer si le taux de concordance entre la méthode homologuée PrepStain®, la méthode PrepMate® et la méthode manuelle dépassait ce qui pourrait relever du fruit du hasard uniquement.
- Évaluer la justesse du spécimen conformément aux normes du système PrepStain® pour la préparation des lames SurePath® à l'aide de la méthode PrepMate®.
- Évaluer la justesse du spécimen conformément aux normes du système PrepStain® pour la préparation des lames SurePath® à l'aide de la méthode manuelle

ACCESSOIRE PREPMATE®

Le PrepMate® est un accessoire à utiliser avec le système PrepStain® qui automatise deux étapes manuelles (le mélange et le dépôt) du procédé de laboratoire PrepStain®. Le PrepMate® mélange soigneusement et retire avec précision le spécimen du flacon de conservateur SurePath® et dépose le spécimen sur le PrepStain® Density Reagent dans le tube à essai. Un porte-échantillon, préalablement garni de flacon d'échantillons, de seringues et de tubes à essai (contenant le liquide de densité Density fluid) est placé sur le plateau de l'instrument. Le portoir peut contenir jusqu'à douze flacons, tubes et seringues, lesquels sont disposés dans 3 rangées de quatre chacune. Les flacons, seringues et tubes sont jetables. Ils ne doivent être utilisés qu'une seule fois pour éliminer la possibilité de contamination de spécimen.

MÉTHODE MANUELLE

La méthode manuelle utilise un procédé manuel pour étaler une couche de suspension cellulaire sur les lames et colorer la préparation. Le recueil et le traitement de prélèvements gynécologiques sont identiques pour la méthode manuelle comme pour la méthode homologuée PrepStain® jusqu'au stade de l'utilisation de l'instrument PrepStain®.

Dans le cas de la méthode PrepStain®, les culots cellulaires centrifugés sont placés directement sur l'instrument PrepStain® en vue d'un traitement automatisé produisant des lames colorées SurePath®.

Dans le cas de la méthode manuelle, l'eau déionisée est ajoutée au culot cellulaire centrifugé, cette action est suivie d'un mélange au vortex pour à nouveau suspendre et randomiser l'échantillon. L'échantillon est transféré dans une chambre de décantation montée sur une lame SurePath® PreCoat. Une fois la sédimentation de l'échantillon terminée, ce dernier est coloré à l'aide d'un procédé de coloration Papanicolaou par lots.

PRISE EN COMPTE DES LAMES

Le tableau 17 montre la prise en compte des lames dans les études cliniques. Il est important de noter que l'ensemble de l'étude se composait de **trois lames par cas**.

Tableau 17 Prise en compte des lames

	Cas	Lames
Nombre total d'inscrits à l'étude	471	1,413
Nombre total d'exclus de l'analyse	-68	-204
Documentation incomplète	-39	-117
Lames préparées incorrectement	-24	-72
Autres raisons d'exclusion *	-5	-15
Nombre total d'inclus dans l'analyse	403	1,209

* Echantillons manquants, numéros de patient dupliqués, etc.

CARACTÉRISTIQUES SOCIO-DÉMOGRAPHIQUES

Le tableau 18 énumère les caractéristiques démographiques d'âge des patients pour tous les cas inclus dans la population à l'étude.

Tableau 18 Caractéristiques socio-démographiques des patients

Age	Nombre de cas
19 ou plus jeune	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Total	403

Le tableau 19 énumère les informations cliniques actuelles et, le tableau 20, les antécédents cliniques pour tous les cas inclus dans la population à l'étude. Noter que la sélection multiple était autorisée ; il est donc possible que le décompte final des cas ne corresponde pas au nombre total de cas dans la population à l'étude.

Tableau 19 Informations cliniques actuelles

Informations cliniques	Nombre de cas
Cyclique	241
Cycle irrégulier	69
Hystérectomie	16
Enceintes	9
Post-avortement	0
Post-naissance	9
Post-ménopause	58
Péri-ménopause	1
Immuno-dépressif	0
Présentation GYN anormale	0
Pertes vaginales	137
Traitement hormonal de substitution	19
DIU	2
Contraceptifs oraux/Implants	20
Pas de contraception	181
Informations non disponibles	22

Tableau 20 Antécédents cliniques

Antécédents	Nombre de cas
Cytologie anormale antérieure	13
Antécédents de saignement anormal	36
Biopsie	3
Antécédents de Cancer	1
Chimiothérapie	0
Rayonnement	0
Colposcopie	9
VIH/SIDA	0
HPV (Virus de la verrue)	0
Herpès	1
Antécédents de LBT*	1
Antécédents d'IVH*	57
Aucune notée	363

* Ligature bilatérale des trompes

* Infection génitale haute

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Le but de cette étude était d'établir que les lames SurePath®, préparées à l'aide de la méthode PrepMate® et les procédés de la méthode manuelle, étaient favorablement comparables à celles préparées selon la méthode homologuée PrepStain®. Les données cliniques montrent que les lames préparées à l'aide de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle, sont de morphologie et de qualité comparable à celles préparées selon la méthode homologuée PrepStain®.

Les données cliniques indiquent également que l'efficacité diagnostique est la même pour la méthode PrepMate® et la méthode manuelle, en comparaison avec la méthode homologuée PrepStain®. En outre la justesse des lames préparées à l'aide de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle, ne diffère pas de celle des lames préparées selon la méthode homologuée PrepStain®. Ces résultats appuient la comparabilité de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle avec la méthode homologuée PrepStain®.

MORPHOLOGIE ET QUALITÉ DU SPÉCIMEN

Le tableau 21 indique les résultats des principaux objectifs. L'acceptabilité des lames préparées par chacune des méthodes fut évaluée selon les critères morphologiques et qualitatifs indiqués dans le tableau. Pour chaque critère, la proportion de lames acceptables fut calculée avec l'exact intervalle de confiance correspondant de 95 %.

Tableau 21 Comparaison des taux et intervalles de confiance (IC) pour les critères d'acceptabilité

Méthode de préparation des lames							
	PrepStain®		PrepMate®		Méthode manuelle		
	Taux (n/N)	IC exact de 95 %	Taux (n/N)	IC exact de 95 %	Taux (n/N)	IC exact de 95 %	
Critère d'acceptabilité	Coloration	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Clarté	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nucléaire	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Cytologie	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Groupement	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Cellularité	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Les taux d'acceptabilité de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle sont pratiquement toujours équivalents ou supérieurs à ceux de la méthode PrepStain®. En outre, les intervalles de confiance d'exactement 95 % de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle, chevauchent ceux de la méthode homologuée PrepStain® pour chaque critère. Ceci implique que les lames préparées à l'aide de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle, sont de morphologie et de qualité comparable à celles préparées selon la méthode homologuée PrepStain®. Par conséquent, la qualité de la préparation est la même pour la méthode homologuée et les deux méthodes d'essai.

CONCORDANCE DIAGNOSTIQUE

Cette analyse compare les diagnostics des lames préparées par chaque méthode. Comme les données sont dérivées d'échantillons fractionnés, les matrices de diagnostic présentées dans les tableaux 22 et 23 s'appuient sur des échantillons associés par paires avec chacune des méthodes de préparation des lames d'essai (PrepMate® et méthode manuelle), lesquelles sont comparées à la méthode homologuée PrepStain®. Dans l'idéal, le diagnostic obtenu à partir des lames préparées par deux méthodes sera le même. Ceci est représenté par le nombre de lames présentant des diagnostics identiques, qui apparaissent sur la diagonale principale de chaque tableau.

La première mesure de concordance est la proportion de lames situées sur la diagonale principale et l'intervalle de confiance correspondant d'exactement 95 %. La seconde mesure de concordance est obtenue à partir du test statistique kappa, qui a été calculé et testé pour chaque comparaison. Le test détermine si le taux de concordance entre les deux méthodes dépasse ce qui pourrait relever du fruit du hasard uniquement. Etant donné que les observations sont ordonnées, il est plus important de disposer d'observations sur ou près de la diagonale principale. Le test statistique kappa pondéré donne plus de poids aux observations situées sur ou près de la diagonale principale des tableaux.

COMPARAISON DES MÉTHODES HOMOLOGUÉES PREPSTAIN® ET PREPMATE®

Dans le tableau 22, le nombre de lames sur la diagonale principale est de 367 (2+334+8+6+5+11+1) et la proportion de lames sur la diagonale principale est de 0,9107 (367/403) un intervalle d'exactement 95 % pour des limites de confiance comprises entre 0,8785 et 0,9366.

Si des lames insatisfaisantes sont exclues du tableau par suppression de la première rangée et de la première colonne, il reste 397 lames. La proportion de lames sur la diagonale principale est de 0,9194 (365/397) avec un intervalle de 95 % pour des limites de confiance situées entre 0,8881 et 0,9442.

Les résultats du tableau 22 indiquent que la méthode homologuée PrepStain® et la méthode PrepMate® disposent d'une forte proportion de lames présentant une concordance diagnostique, comme l'indique la proportion de lames de la diagonale principale du tableau. Qui plus est, l'analyse pondérée kappa indique que la concordance dépassait de loin ce qui pourrait être attribué au fruit du hasard uniquement.

Tableau 22 Tableau à double entrée des diagnostics par les méthodes PrepStain® et PrepMate®

Diagnostic de la méthode PrepStain®											
Diagnostic de la méthode PrepMate®		Insat	DLN	BCC-RR	Atypie	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
	Insat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atypie	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARAISON DE LA MÉTHODE HOMOLOGUÉE PREPSTAIN® ET DE LA MÉTHODE MANUELLE

Dans le tableau 23, le nombre de lames de la diagonale principale est 353 (3+315+6+10+7+11+1). La proportion de lames sur la diagonale principale est de 0,8759 (353/403). Les limites de confiance binomiales exactes de 95 % pour cette proportion sont comprises entre 0,8397 et 0,9065.

Si des lames insatisfaisantes sont exclues du tableau par suppression de la première rangée et de la première colonne, il reste 398 lames. La proportion de lames sur la diagonale principale est de 0,8794 (350/398) avec un intervalle de 95 % pour des limites de confiance situées entre 0,8433 et 0,9097. Les résultats du tableau 23 indiquent que la méthode homologuée PrepStain® et la méthode manuelle disposent d'une forte proportion de lames présentant une concordance diagnostique, comme l'indique la proportion de lames de la diagonale principale du tableau. Qui plus est, l'analyse pondérée kappa indique que la concordance dépassait de loin ce qui pourrait être attribué au fruit du hasard uniquement. Par conséquent, l'efficacité diagnostique est la même pour la méthode homologuée et les deux méthodes testées.

Tableau 23 Tableau à double entrée des diagnostics par la méthode PrepStain® et la méthode manuelle

Diagnostic de la méthode PrepStain®											
Diagnostic de la méthode manuelle		Insat	WNL	BCC-RR	Atypie	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
	Insat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atypie	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

QUALITÉ DES LAMES

La qualité des lames fut évaluée pour chacune des méthodes de préparation. Les données furent analysées à l'aide d'un test McNemar bilatéral.¹⁸

Le tableau 24 montre les résultats de la qualité lors de la comparaison de la méthode homologuée PrepStain® avec la méthode PrepMate®.

Tableau 24 Résultats de qualité pour les lames des méthodes PrepMate® et PrepStain®

Résultat de la méthode PrepStain®				
Résultat de la méthode PrepMate®	SAT ou SBLB	INSAT		
		SAT ou SBLB	INSAT	
		398	3	401
	INSAT	0	2	2
		398	5	403

Le tableau 25 montre les résultats de qualité lors de la comparaison de la méthode homologuée PrepStain® avec la méthode manuelle.

Tableau 25 Résultats de qualité pour les lames de la méthode manuelle et de la méthode PrepStain®

Résultat de la méthode PrepStain®				
Résultat de la méthode manuelle	SAT ou SBLB	INSAT		
		SAT ou SBLB	INSAT	
		398	2	400
	INSAT	0	3	3
		398	5	403

Ces deux comparaisons démontrent que la méthode PrepMate® et la méthode manuelle ne diffèrent pas de la méthode homologuée PrepStain® en ce qui concerne la justesse de la lame.

ÉTUDE « DIRECT TO VIAL »

Suite à l'homologation initiale du système PrepStain® par la FDA, TriPath Imaging a mené une étude multicentrique de grande envergure du système PrepStain® utilisé, selon l'usage prévu, avec des échantillons mis directement en flacon. Les études cliniques précédentes utilisaient une méthode d'échantillon fractionné selon laquelle l'échantillon était tout d'abord utilisé pour créer une lame de Pap smear conventionnel et le reste de l'échantillon était placé dans le liquide de conservation SurePath®, traité par le système PrepStain® pour créer une lame SurePath®. Il est bien connu que les conceptions d'échantillons fractionnés sous-estiment l'efficacité réelle de la préparation à partir du matériel cellulaire résiduel¹².

Cette étude a comparé l'efficacité des lames SurePath® produites à partir d'échantillons mis directement en flacon avec le Pap smears conventionnel. Les résultats obtenus avec SurePath® furent comparés aux résultats obtenus à partir d'un historique de cohorte de Pap smears conventionnels. Plus précisément, cette étude a évalué si les lames SurePath® amélioraient le décellement de lésions Squamous Intraépithéliales de Haut grade (HSIL), d'adénocarcinome in-situ et du cancer (HSIL+). Toutes les données de biopsie disponibles furent recueillies pour les deux populations des lames.

La population SurePath® consistait en 58 580 lames recueillies prospectivement de 57 cliniques ayant converti presque 100 % des prélèvements de Pap smear conventionnel en prélèvement d'échantillons SurePath®. Les échantillons prélevés dans ces cliniques furent envoyés à trois établissements hospitaliers pour le traitement.

La population conventionnelle consistait en 58 988 lames provenant des mêmes cliniques que les lames SurePath®. Cette historique de population fut recueilli en commençant avec les lames les plus récentes avant que les cliniques ne soient converties à SurePath®, puis en reculant dans le temps jusqu'à ce que les populations des lames conventionnelles et SurePath® de chaque établissement hospitalier soit à peu près à nombre égal.

Les résultats de cette étude signalent un taux de dépistage de 405/58 580 pour les lames SurePath® par rapport à 248/58 988 pour les lames conventionnelles, ce qui conduit à des taux de dépistage respectifs de 0,691% et 0,420% (se référer au tableau 26). Pour les établissements hospitaliers de ces populations à l'étude, ceci indique une augmentation du dépistage des lésions HSIL + de 64,4 % (p<0,00001) pour les lames SurePath®.

Tableau 26 Comparaison des taux de dépistage par site

HSIL +

Site	Conventionnelle			SurePath®		
	Total	HSIL+	Pourcentage (%)	Total	HSIL+	Pourcentage (%)
1	41,274	216	0,523	40,735	300	0,736
2	10,421	19	0,182	10,676	78	0,731
3	7,293	13	0,178	7,169	27	0,377
Total	58,988	248	0,420	58,580	405	0,691

LSIL+

Site	Conventionnelle			SurePath®		
	Total	LSIL+	Pourcentage (%)	Total	LSIL+	Pourcentage (%)
1	41,274	765	1,853	40,735	1501	3,685
2	10,421	96	0,921	10,676	347	3,250
3	7,293	99	1,357	7,169	127	1,772
Total	58,988	960	1,627	58,580	1975	3,371

ASCUS+

Site	Conventionnelle			SurePath®		
	Total	ASCUS+	Pourcentage (%)	Total	ASCUS+	Pourcentage (%)
1	41,274	1,439	3,486	40,735	2,612	6,412
2	10,421	347	3,330	10,676	689	6,454
3	7,293	276	3,784	7,169	285	3,975
Total	58,988	2,062	3,496	58,580	3,586	6,122

Insatisfaisante

Site	Conventionnelle			SurePath®		
	Total	UNSAT+	Pourcentage (%)	Total	UNSAT+	Pourcentage (%)
1	41,274	132	0,320	40,735	37	0,091
2	10,421	163	1,564	10,676	89	0,834
3	7,293	20	0,274	7,169	4	0,056
Total	58,988	315	0,534	58,580	130	0,222

Remarque : Il faut s'attendre à des variations d'efficacité d'un site à un autre. Chaque laboratoire doit surveiller attentivement la qualité de son travail.

PROCÉDURE

Les modalités techniques complètes de préparation des lames SurePath® sont fournies dans le manuel d'utilisation du système PrepStain®.

BIBLIOGRAPHIE

1. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994

2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich System with Conventional Cervical Cytology: Preliminary Data on 2,032 Cases from a Clinical Trial Site. Acta Cytol 1997; 41:15-23

3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197

4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:

5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of Specimen Preparation Through Mono/Thin-Layer Technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-shoin, 1994, pp 176-185. 176-185

6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177

7. McGoogan E, Reith A: Would Monolayers Provide More Representative Samples and Improved Preparations for Cervical Screening? Overview and Evaluation of Systems Available. Acta Cytol 1996; 40:107-119

8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500

9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29

10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041

11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678

12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184

13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7

14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62

15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995

16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642

17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776

18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.

19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NOM ET ADRESSE DE LA SOCIÉTÉ

TriPATH Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
Information concernant PrepStain® : 1-800-426-2176 ou 336-9707
Télécopie : 336-222-8819.
Numéros de brevets américains : 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Numéros de brevets canadiens : 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Numéros de brevets japonais : 2837076, 2781513.
Numéros de brevets européens : 0590504, 0590447, 0590506B.
Autres brevets américains et étrangers en instance.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

USO PREVISTO

El sistema PrepStain® (anteriormente conocido como sistema AutoCyte® PREP) es un proceso de preparación de capa fina de células, basado en líquido. El sistema PrepStain® produce portaobjetos SurePath® que se utilizan como sustitutos para extensiones ginecológicas de Papanicolaou convencionales. Los portaobjetos SurePath® (anteriormente conocidos como portaobjetos AutoCyte® PREP) se utilizan en la selección y detección de cáncer cervical, sus lesiones precursoras, células atípicas, así como todas las demás categorías citológicas definidas por The Bethesda System para indicar diagnósticos citológicos cervicales y vaginales^{1, 19}.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El sistema PrepStain® convierte una suspensión de muestras de células cervicales en una capa fina y homogénea de células ligeramente teñidas, conservando al mismo tiempo los agrupamientos de células para fines diagnósticos²⁻⁹. El proceso incluye la conservación de las células, su randomización, potenciación del material de diagnóstico, pipeteado, sedimentación, tinción y cubrimiento para crear un portaobjetos SurePath® para uso en pruebas citológicas rutinarias, y su clasificación según *The Bethesda System*¹. El portaobjetos SurePath® presenta una población de células bien conservadas y teñidas dentro de un círculo de 13 mm de diámetro. Se eliminan en gran medida artefactos por secado con aire, células que solapan u ocultan el material de diagnóstico, y detritos. La cantidad de leucocitos se reduce de forma importante, facilitando la detección de las células epiteliales, células de importancia diagnóstica, y microorganismos infecciosos.

El proceso con el SurePath® empieza con la recogida de una muestra ginecológica por parte de personal médico cualificado, utilizando un dispositivo de tipo cepillo (p. ej., Cervex-Brush® (Rovers Medical Devices, B.V., Oss - Holanda) o una combinación de cepillo/espátula plástica endocervicales (p. ej., Cytobrush® Plus GT y espátula Pap Perfect®, Medscan (USA) Inc., Trumbull, CT) con cabezas separables para recolectar una muestra ginecológica. En lugar de efectuar un frotis con las células recolectadas mediante los dispositivos de muestreo sobre un portaobjeto de vidrio, las cabezas de los dispositivos de muestreo se desprenden del mango y se colocan en un frasco de líquido conservante SurePath®. El frasco es tapado, rotulado y enviado al laboratorio para su procesamiento con la orden correspondiente. Las cabezas del dispositivo de muestreo en ningún momento se retiran del frasco de líquido conservante que contiene la muestra recolectada.

En el laboratorio, la muestra conservada se mezcla con vórtex y se luego transfiere a una probeta que contiene PrepStain® *Density Reagent*. Un paso de potenciación, que consiste en la sedimentación por centrifuga utilizando *Density Reagent*, elimina parcialmente los detritos y el exceso de células inflamatorias de la muestra. Tras la centrifugación, las células con pellet se vuelven a suspender, se mezclan y se transfieren a un PrepStain® *Settling Chamber* montado en un SurePath® *PreCoat* slide. Las células se sedimentan por gravedad y luego se tiñen mediante un procedimiento de tinción de Papanicolaou modificado. El portaobjetos se limpia con xileno, o con un sustituto del xileno, y se cubre. Las células, presentes dentro de un círculo de 13 mm de diámetro, son examinadas con microscopio por citotécnicos y patólogos con acceso a la historia de la paciente.

LIMITACIONES

- Las muestras ginecológicas para preparación con el sistema PrepStain® deben obtenerse con un dispositivo de recogida de muestras de tipo escobilla o una combinación de cepillo/espátula plástica endocervicales con cabezas separables de acuerdo con el procedimiento de recolección estándar recomendado por el fabricante. Con el sistema PrepStain® no deben utilizarse espátulas de madera. Con el sistema PrepStain® tampoco deben utilizarse combinaciones de cepillo/espátula plástica endocervicales no separables.
- La capacitación por personal autorizado es un requisito previo para la generación y estudio de portaobjetos SurePath®. Los citotécnicos y los patólogos deben haber recibido formación sobre valoraciones morfológicas con los portaobjetos SurePath®. La formación debe incluir un examen de capacitación. Los laboratorios recibirán juegos de portaobjetos y de pruebas para su formación. TriPath Imaging®, Inc. también ayudará a preparar portaobjetos de formación con las poblaciones de pacientes del cliente.
- El sistema PrepStain® funcionará correctamente sólo con los productos admitidos o recomendados por TriPath Imaging. Los productos utilizados deben eliminarse de conformidad con las normas locales.
- Todos los productos son de un solo uso y no deben ser reutilizados.

Reactivos



Con fines de diagnóstico in vitro. Para uso en laboratorio exclusivamente.

Advertencias



El líquido preservativo contiene una solución diluida del etanol desnaturalizado. La mezcla contiene cantidades pequeñas de metanol y de isopropanol. No lo injiera.



El reactivo de la densidad contiene el azide del sodio. No injiera. El azide del sodio puede reaccionar con el plomo o la plomería de cobre formando azides del metal altamente explosivos. En la disposición, rubor con bastante agua para prevenir la acumulación del azide. Para información adicional, refiera a la corriente 13 de la publicación DHHS (NIOSH) No. 78-127, publicada por los centros para el control de la enfermedad. Vea el website www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Tóxico si está ingerido. No injiere los vapores. Use con ventilación adecuada. Evite el contacto con la piel y los ojos. Altamente inflamable.

PRECAUCIONES

- Deben seguirse las buenas prácticas de laboratorio y observarse estrictamente todos los procedimientos correspondientes al uso del sistema PrepStain®.
- Los reactivos deben almacenarse a temperatura ambiente (entre 15° y 30° C) y utilizarse antes de su fecha de caducidad para garantizar un rendimiento correcto. SurePath® *Preservative Fluid* puede conservarse sin muestras citológicas durante un período de 36 meses a partir de la fecha de fabricación, a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C). El límite de conservación de SurePath® *Preservative Fluid* con muestras citológicas es de 6 meses en refrigeración (de 2 a 10 °C) o de 4 semanas a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C).
- Evitar salpicaduras y la formación de aerosoles. Utilizar material de protección adecuado para las manos, los ojos y el cuerpo.
- SurePath® *Preservative Fluid* tiene propiedades antimicrobianas y ha sido probado con eficacia contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Aspergillus niger*. Las muestras tratadas con SurePath® *Preservative* e inoculadas con 10⁶ CFU/ml de cada especie no presentaron ningún crecimiento después de 14 días (28 días en el caso de *Mycobacterium tuberculosis*) de incubación en condiciones estándar. Sin embargo, en todo momento deben tomarse las precauciones universales para la manipulación segura de fluidos biológicos.
- No observar los procedimientos descritos en el documento PrepStain® *System Operator's Manual* (manual del usuario) puede afectar adversamente a los resultados obtenidos con el sistema.

MATERIAL NECESARIO

En el manual del usuario del sistema PrepStain® encontrará toda la información sobre los reactivos, componentes y accesorios. No todos los materiales enumerados a continuación son necesarios para la preparación manual de los portaobjetos SurePath® (sin usar el PrepStain® *Instrument*).

Suministrado

- PrepStain® *Instrument*
- SurePath® *Preservative Fluid Collection Vial* (incluye SurePath® *Preservative Fluid*)
- Dispositivos de muestreo cervical con cabezas separables
- PrepStain® *Density Reagent*
- PrepStain® *Syringing Pipettes*
- PrepStain® *Settling Chambers*
- Cytology *Stain Kit*
- SurePath® *PreCoat Slide*
- Centrifuge Tubes*
- Slide and Tube Racks*
- Disposable Transfer and Aspirator Tips*

No suministrado

- Vórtex
- Agua desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol y alcohol reactivo
- Agente limpiador, medio de preparación y cubreobjetos de vidrio

Conservación

SurePath® *Preservative Fluid* puede conservarse sin muestras citológicas durante un período de 36 meses a partir de la fecha de fabricación, a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C).

El límite de conservación de SurePath® *Preservative Fluid* con muestras citológicas es de 6 meses en refrigeración (de 2 a 10 °C) o de 4 semanas a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C).

INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO E IDONEIDAD DE LA PREPARACIÓN

Una vez terminada la formación del usuario autorizado por TriPath Imaging sobre el empleo del sistema PrepStain® y con los portaobjetos SurePath®, deben aplicarse a los portaobjetos SurePath®¹ los criterios de diagnóstico citológico establecidos por The Bethesda System y utilizados actualmente en laboratorios citológicos, con extensiones de Papanicolaou. Las nuevas pautas generales recomendadas en el Bethesda 2001 Reporting System se refieren al manejo de las preparaciones de base líquida y establecen la forma de determinar la celularidad adecuada específicamente para estas preparaciones.

En la ausencia de células anormales, una preparación se considera no satisfactoria si se presentan una o varias de las siguientes condiciones:

- (1) Un número insuficiente de células para el diagnóstico (menos de 5000 células epiteliales escamosas por preparación). A continuación se indican procedimientos para calcular el número de células epiteliales escamosas bien conservadas, en los portaobjetos SurePath®:
- Para cada modelo de microscopio utilizado en el análisis, consulte el manual del fabricante del microscopio o póngase en contacto con el mismo para averiguar el área de campo que obtendrá con la lente y un objetivo de 40x. Como alternativa, utilizar un hematocitómetro o una escala de medición de portaobjetos (área del campo = πr^2 donde r es el radio del campo) para calcular el área del campo.
 - El promedio mínimo de células que caben en el campo de un objetivo de 40x se calcula dividiendo el área ocupada por las células (aproximadamente 130 mm²) en el portaobjetos SurePath®, por el área del campo del microscopio utilizado. Luego se divide el resultado por el valor mínimo de 5000 células. El resultado es el promedio idóneo mínimo recomendado de células epiteliales que debe haber en el campo de visión de un objetivo de 40x. Anotar este número y guardarlo para ser usado como referencia por el citotécnico. Pautas generales Bethesda 2001 que indican la cantidad aproximada de células por campo para una preparación de 13 mm.
 - Deben computarse como mínimo 10 campos en direcciones horizontal o vertical a lo largo del centro del diámetro de la preparación.
 - Como modo práctico de evaluar el contenido celular, puede utilizarse una valoración macroscópica de la densidad visual de la preparación teñida, para comprobar la idoneidad de los procesos de preparación. Sin embargo, este proceso no puede sustituir a la evaluación microscópica principal que realice el citotécnico durante el proceso de selección.

- (2) El 75% o más de los componentes celulares quedan ocultos por inflamaciones, sangre, bacterias, mucosa o artefactos que impiden la interpretación citológica del portaobjetos. Todo hallazgo anormal o sospechoso durante el screening requiere la derivación a un anatomopatólogo para su revisión y diagnóstico definitivo. El anatomopatólogo debe consignar cualquier alteración morfológica que revista importancia diagnóstica.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO: INFORME DE ESTUDIOS CLÍNICOS

PRIMER ESTUDIO DE MUESTRAS DIVIDIDAS

TriPath Imaging llevó a cabo un estudio ciego de prospección con muestras divididas y emparejadas en varios centros, con el fin de comparar los resultados del diagnóstico de portaobjetos SurePath® producidos con el sistema PrepStain®, y utilizando extensiones de Papanicolaou preparadas con métodos convencionales. Este estudio tenía como objetivo evaluar el rendimiento de portaobjetos SurePath® en comparación con extensiones de Papanicolaou convencionales, para la detección de cáncer cervical, sus lesiones precursoras, y células atípicas en varias poblaciones de pacientes y entornos de laboratorio. También se evaluó la idoneidad de ambas preparaciones.

Siguiendo las recomendaciones citadas en el documento “Points to Consider” de la FDA, referente a dispositivos para citología cervical¹⁰, tras preparar cada extensión de Papanicolaou, la muestra residual en el dispositivo tipo cepillo se depositó en un vial de SurePath® Preservative Fluid.

Tras su transporte al laboratorio, cada suspensión celular fue procesada según el protocolo del sistema PrepStain®. El portaobjetos SurePath® resultante y el portaobjetos con la extensión de Papanicolaou convencional fueron seleccionados manualmente y diagnosticados independientemente, empleando clasificaciones de diagnóstico coherentes con The Bethesda System. En cada centro, un patólogo evaluó todos los portaobjetos considerados como anormales.

Siguiendo el método descrito por Shatzkin¹¹, en este estudio un patólogo de referencia independiente de un centro de referencia revisó todos los casos anormales y discrepantes, los casos ajustados y el 5 % de los casos normales de todos los centros. El estudio se realizó de forma ciega para obtener la “verdad” diagnóstica en cada caso.

CARACTERÍSTICAS DE LAS PACIENTES

Las edades de las mujeres que participaron en el estudio oscilaban entre 16 y 87; 772 de ellas estaban en edad postmenopáusica. De las 8.807 pacientes que participaron en el estudio, 1.059 presentaban un historial de extensiones anteriores de Papanicolaou anormales. La población sometida a estudio estaba formada por los siguientes grupos étnicos: Caucásicos (44%), Negros (30%) Asiáticos (12%), Hispánicos (10%), Indígenas norteamericanos (3%) y otros grupos (1%).

Se excluyeron del estudio los casos con documentación incorrecta, las pacientes menores de 16 años, las pacientes con histerectomía y las muestras citológicamente no satisfactorias e inadecuadas. Se intentó incluir un máximo de casos con cáncer cervical y con enfermedades precursoras al cáncer, buscando pacientes de alto riesgo y pacientes que no habían realizado análisis frecuentes, o que habían sido enviadas por otros centros.

De un total de 10.335 casos, 9.046 fueron aceptados y estudiados en ocho centros diferentes. De estos 9.046, 8.807 cumplían con los requisitos de The Bethesda System sobre la idoneidad de la preparación, y pudieron participar en el diagnóstico completo de ambas preparaciones.

RESULTADOS DEL ESTUDIO

El estudio clínico tenía como objetivo comparar el rendimiento de los portaobjetos SurePath® producidos con el sistema PrepStain®, con el rendimiento de las extensiones de Papanicolaou preparadas con métodos convencionales. Los portaobjetos de ambos métodos de preparación fueron clasificados según los criterios de The Bethesda System. El protocolo del estudio se inclinó a favor de la extensión de Papanicolaou convencional debido a que esta muestra siempre se preparaba en primer lugar, con la consiguiente limitación del

portaobjetos SurePath® al material residual en el cepillo (en circunstancias normales este material hubiera sido eliminado)¹². El uso previsto de la prueba SurePath® es una aplicación tipo “directo al vial” en la que el sistema PrepStain® utilizará todas las células obtenidas.

Para poder comparar las sensibilidades de los portaobjetos SurePath® y de aquellos preparados con el método de Papanicolaou convencional, el patólogo de referencia determinó el grado de anormalidad de los casos y los comparó con los diagnósticos obtenidos por los centros que participaron en el estudio. El diagnóstico de referencia estaba basado en el diagnóstico más anormal de las dos preparaciones, obtenido por el patólogo independiente. Este resultado se utilizó como diagnóstico de la “verdad”, o valor de referencia, para comparar los resultados de los centros utilizando el sistema PrepStain® para preparar los portaobjetos SurePath®, frente a la preparación de la extensión de Papanicolaou con métodos convencionales. La hipótesis nula de que las sensibilidades de ambos métodos de preparación de portaobjetos son iguales, fue comprobada mediante la prueba de McNemar para datos apareados¹³. En esta prueba estadística, se compararon los resultados discrepantes de los dos métodos de preparación.

La tabla 1 muestra una comparación directa de los resultados obtenidos con los portaobjetos SurePath® en todos los centros frente a los portaobjetos convencionales, para las categorías de diagnóstico Dentro de límites normales (WNL), Células escamosas atípicas de significado indeterminado/Células glandulares atípicas de significado indeterminado (ASCUS/AGUS), Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado (LSIL), Lesión intraepitelial de alto grado (HSIL) y cáncer (CA).

Tabla 1 Primer estudio con muestras divididas: 8.807 muestras apareadas — Comparación de resultados obtenidos en cada centro — Sin patólogo de referencia

Resultados por centro								
Nº del centro	Tipo de porta	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
Total	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®
CN = Convencional

La tabla 2 muestra una comparación directa de los resultados obtenidos en todos los centros con el método de preparación SurePath® frente al método de Papanicolaou convencional, para todas las categorías de diagnóstico.

Tabla 2 Primer estudio con muestras divididas: 8.807 muestras apareadas — Comparación de resultados obtenidos en todos los centros — Sin patólogo de referencia

Extensión de Papanicolaou convencional							
	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	WNL	7.290	361	20	63	24	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	509
	AGUS	26	6	4	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	342
	HSIL	20	10	7	17	79	135
	CA	2	1	2	0	15	26
	Total	7.768	531	39	271	177	8.807

Las tablas 1 y 2 no muestran los resultados obtenidos por el patólogo de referencia.

Tabla 3 Primer estudio con muestras divididas: Comparación de los resultados de todos los centros designados por el método de referencia como ASCUS/AGUS — Análisis de errores discrepantes

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	113	205
	Error	180	229
		293	434
			727

Éxito = ASCUS/AGUS

Error = WNL y Reactivo/Reparativo

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$

Errores con el método convencional: 205

Errores con SurePath®: 180

La tabla 3 muestra los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como ASCUS/AGUS. Esta evaluación permite el análisis de los errores discrepantes para evaluar la sensibilidad de los métodos empleados en el estudio de muestras divididas. Los errores incluyen WNL y Reactivo/Reparativo. Dado que el valor p obtenido con la prueba de McNemar era superior a 0,05, los resultados obtenidos con las extensiones convencionales de Papanicolaou fueron equivalentes.

Tabla 4 Primer estudio con muestras divididas: Comparación de los resultados de todos los centros designados por el método de referencia como LSIL — Análisis de errores discrepantes

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	140	63
	Error	54	86
		194	149
			343

Éxito = LSIL

Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Errores con el método convencional: 63

Errores con SurePath®: 54

La tabla 4 muestra los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como LSIL. Los errores incluyen WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS. Al igual que con ASCUS/AGUS, la sensibilidad de los dos métodos en el estudio de muestras divididas era estadísticamente equivalente, con un valor p superior a 0,05.

Tabla 5 Primer estudio con muestras divididas: Comparación de los resultados de todos los centros designados por el método de referencia como HSIL — Análisis de errores discrepantes (LSIL no es un error)

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	160	28
	Error	36	38
		196	66
			262

Éxito = HSIL+

Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS.

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Errores con el método convencional: 28

Errores con SurePath®: 36

La tabla 5 muestra los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia, como HSIL+. En esta comparación, LSIL no se consideró como error sino como discrepancia^{10,14,15}. Los errores incluyen WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS. El análisis de sensibilidad de los errores discrepantes mostró una equivalencia estadística de los métodos empleados en el estudio de muestras divididas.

Tabla 6 Primer estudio con muestras divididas: Análisis de errores discrepantes para casos de cáncer (HSIL no es un error; LSIL se considera un error)

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	19	2
	Error	5	1
		24	3
			27

Éxito = Cáncer

Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Errores con el método convencional: 2

Errores con SurePath®: 5

La tabla 6 muestra los resultados (todos los centros) para casos determinados como cáncer por el método de referencia. Los errores incluyen WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. El análisis de sensibilidad de los errores discrepantes mostró una

equivalencia estadística de los métodos empleados. Estos 27 casos de cáncer fueron incluidos en el estudio de reevaluación. Estos datos aparecen en la tabla 9.

Tabla 7 Primer estudio con muestras divididas: Comparación de los resultados de todos los centros designados por el método de referencia como HSIL — Análisis de errores discrepantes (LSIL se consideró como error en este análisis)

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	94	33
	Error	67	68
		161	101
			262

Éxito = (HSIL+)

Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Errores con el método convencional: 33

Errores con SurePath®: 67

La tabla 7 muestra los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como HSIL+. El error incluye WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. Aunque no es coherente con el protocolo del estudio original¹⁰, se realizó una comparación estadística de los métodos en los que LSIL se consideró como error de diagnóstico, con un caso que fue determinado como HSIL+ por el patólogo de referencia. En esta comparación de sensibilidades de diagnóstico, cuando LSIL se considera como error frente a una ligera discrepancia, los portaobjetos SurePath® preparados con el sistema PrepStain® no serán equivalentes a las extensiones de Papanicolaou preparadas con métodos convencionales, para la detección de anomalías de HSIL+ en el estudio de muestras divididas.

REEVALUACIÓN CIEGA DE LOS CASOS DE HSIL+

Se llevó a cabo una nueva evaluación para determinar si los resultados habían sido afectados por la calidad de la preparación o por una subjetividad interpretativa. Para poder evaluar los 262 casos diagnosticados como HSIL+ en el estudio original (Tabla 7), se realizó una evaluación adicional después de haber implementado un nuevo programa de formación para citólogos. Este programa tenía como objetivo potenciar una interpretación coherente entre los grupos de diagnóstico de The Bethesda System. Estos casos de HSIL+ fueron incluidos como muestras ciegas en una reevaluación que consistió en un total de 2.438 muestras preparadas con el mismo protocolo de muestras divididas. Los resultados de los estudios realizados por los centros para las dos preparaciones fueron comparados con un nuevo valor de referencia que requería la concordancia de al menos 2 patólogos de un total de 3, sobre lo que se consideraba como diagnóstico citológico más anormal.

En el proceso de referencia para la reevaluación, ambas preparaciones de portaobjetos con muestras de los casos discrepantes (portaobjetos SurePath® preparados con el sistema PrepStain®, y portaobjetos preparados con métodos convencionales) fueron estudiados de nuevo por otro citotécnico, detectándose nuevas anomalías aparte de las que habían sido detectadas en el primer estudio. Todos los casos discrepantes fueron evaluados por tres citopatólogos, de forma ciega. Este método de referencia más estricto disminuyó el número de casos de referencia de HSIL+, de 262 en el estudio original a 209 en la reevaluación. La diferencia de 53 casos se justifica de la siguiente forma:

El método de referencia más estricto diagnosticó 48 casos como LSIL o menos graves; la idoneidad de 3 casos se consideró como no satisfactoria durante la reevaluación, y los 2 casos restantes no estaban disponibles para su valoración en el estudio de reevaluación ciega.

Tabla 8 Estudio de reevaluación: Análisis de errores discordantes de 209 casos originales de HSIL+ reevaluados con criterios de referencia más estrictos, con la participación de tres patólogos independientes.

		Porta preparado con método convencional	
		Éxito	Error
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	153	26
	Error	24	6
		177	32
			209

Éxito = HSIL+

Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Errores con el método convencional: 26

Errores con SurePath®: 24

La tabla 8 muestra los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como HSIL+. El error incluye WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. En esta comparación, LSIL se consideró como error de diagnóstico frente a un caso que fue determinado como HSIL+ por el patólogo de referencia. La comparación de las sensibilidades del diagnóstico mostró una equivalencia estadística entre los métodos empleados.

Tabla 9 Estudio de reevaluación: Análisis de errores discrepantes para casos de cáncer (HSIL no es un error; LSIL se considera un error)

		Porta preparado con método convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	32	3	35
	Error	3	0	3
		35	3	38

Éxito = Cáncer

Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Errores con el método convencional: 3

Errores con SurePath®: 3

La tabla 9 muestra los resultados para casos determinados como cáncer por el nuevo método de referencia (todos los centros). Los errores incluyen WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. Una de las interpretaciones como LSIL dio un error. Todos los demás errores implicaban la interpretación de los portaobjetos como ASCUS/AGUS o WNL. El análisis de sensibilidad de los errores discrepantes mostró una equivalencia estadística de los métodos empleados.

La reevaluación ciega contenía 2.097 nuevos casos que se utilizaron para ocultar las muestras originales con HSIL+. El análisis y la comparación de las preparaciones con estos nuevos casos se muestran en la tabla 10.

Tabla 10 Estudio de reevaluación: Comparación directa de resultados obtenidos - 2.097 casos — Sin patólogo de referencia

		Extensión de Papanicolaou convencional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	WNL	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1.710	203	3	104	70	7	2.097

De los 2.097 nuevos casos arriba descritos, 77 fueron diagnosticados con HSIL+ por los patólogos de referencia. La tabla 11 muestra el análisis de sensibilidad de los 77 casos con HSIL+.

Tabla 11 Estudio de reevaluación: Comparación de los resultados de todos los centros designados por el método de referencia como HSIL — Análisis de errores discrepantes (LSIL se consideró como error en este análisis)

		Porta preparado con método convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	Éxito	25	21	46
	Error	21	10	31
		46	31	77

Éxito = HSIL+

Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Errores con el método convencional: 21

Errores con SurePath®: 21

El análisis de los errores discrepantes en la tabla 11 dio un número igual de omisiones de HSIL+ con ambos métodos de preparación. El error incluye WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. La prueba estadística demostró una equivalencia entre los dos métodos en el proceso de muestras divididas, incluso cuando LSIL se considera como error frente a un valor de referencia de HSIL+.

La tabla 12 muestra un resumen de los diagnósticos descriptivos de hallazgos benignos en todos los centros.

Tabla 12 Primer estudio con muestras divididas: Resumen de los cambios celulares benignos:

Diagnósticos descriptivos (N° de pacientes: 8.807)	SurePath® Slide preparado con PrepStain®		Porta preparado con método convencional	
	N	%	N	%
Cambios celulares benignos				
*Infección:				
Especies de <i>Candida</i>	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas Vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Actinomyces spp.	6	0,1	2	<0,1
Bacterias (otros)	52	0,6	191	2,2
**Cambios reactivos/reparativos	424	4,8	319	3,6

* En la categoría de infección arriba indicada, se informa de la observación de agentes infecciosos. Es posible que cada caso represente más de una clase de microorganismo.

** Los cambios reactivos/reparativos incluyen cambios reactivos asociados con inflamaciones, vaginitis atrófica, radiación y el uso de un DIU, así como la reparación típica relacionada con células escamosas, escamosas metaplásicas o epiteliales cilíndricas.

En un total de 8.807 casos no se obtuvo ninguna evaluación “no satisfactoria”, ni en los centros donde se realizaron los estudios, ni en el centro de referencia. 239 muestras adicionales recibieron una evaluación “no satisfactoria” de los centros donde se realizaron los estudios o del centro de referencia, o de ambos, en una u otra preparación, o en ambas. De los 239 casos considerados no satisfactorios, 151 eran portaobjetos convencionales, 70 eran portaobjetos SurePath®, y 18 eran ambos tipos de portaobjetos. Todos los casos no satisfactorios fueron excluidos de la comparación diagnóstica por las categorías de The Bethesda System, pero fueron reincorporados para poder comparar la idoneidad de la preparación.

Las tablas 13 a 16 muestran los resultados de la idoneidad de las preparaciones en todos los centros.

Tabla 13 Primer estudio con muestras divididas: Resultados de la idoneidad de las preparaciones

Idoneidad de las preparaciones (N° de pacientes: 9.046)	SurePath® Slide preparado con PrepStain®		Porta preparado con método convencional	
	N	%	N	%
Satisfactorias	7.607	84,1	6.468	71,5
Satisfactorias pero limitadas por:	1.385	15,3	2.489	27,5
Componente endocervical ausente	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefacto de secado con aire	0	0	17	0,2
Extensión espesa	1	< 0,1	0	0
Hemorragia	53	0,6	121	1,3
Inflamación	102	1,1	310	3,4
Escasez de células epiteliales escamosas	4	< 0,1	7	0,1
Citolisis	10	0,1	11	0,1
Sin historia clínica	0	0	0	0
Sin especificar	60	0,7	1.018	11,3
No satisfactorias para evaluación:	54	0,6	89	1,0
Componente endocervical ausente	42	0,5	42	0,5
Artefacto de secado con aire	0	0	0	0
Extensión espesa	0	0	2	< 0,1
Hemorragia	7	0,1	6	0,1
Inflamación	6	0,1	6	0,1
Escasez de células epiteliales escamosas	6	0,1	0	0
Citolisis	0	0	1	< 0,1
Sin historia clínica	0	0	0	0
Sin especificar	37	0,4	32	0,5

Nota: Algunas pacientes presentaron más de una subcategoría.

El patólogo de referencia determinó casos adicionales no satisfactorios. Los totales de los resultados no satisfactorios se indican en la tabla 15. En dicha tabla: SAT = Satisfactorio, SBLB = Satisfactorio pero limitado por (una condición especificada), y UNSAT = No satisfactorio.

Tabla 14 Primer estudio con muestras divididas: Resumen de los resultados de la idoneidad de las preparaciones – Todos los centros que participaron en el estudio

		Porta preparado con método convencional			
		SAT	SBLB	UNSAT	
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

UNSAT: Resultado de la prueba de McNemar χ^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: Resultado de la prueba de McNemar χ^2 mc = 546,21, p = 0,0000

La tabla 14 muestra los resultados de la comparación de la idoneidad de ambos métodos de preparación. Se detectó un número considerablemente inferior de casos No satisfactorios y SBLB con los portaobjetos SurePath® en comparación con los convencionales.

Tabla 15 Primer estudio con muestras divididas: Comparación de los resultados no satisfactorios obtenidos en los centros que participaron en el estudio, y en el centro de referencia

		Porta preparado con método convencional		
		SAT	UNSAT	
SurePath® Slide preparado con PrepStain®	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Resultado de la prueba de McNemar χ^2 mc = 29,69, p = 0,0000

La tabla 15 muestra una comparación entre las preparaciones satisfactorias y no satisfactorias obtenidas en las evaluaciones, tanto en los centros que participaron en el estudio como en el centro de referencia. Los portaobjetos SurePath® muestran una reducción estadísticamente importante de casos no satisfactorios, en comparación con los portaobjetos preparados con métodos convencionales.

Tabla 16 Resultados de la idoneidad de las preparaciones, por centros—Índices de SBLB para ECC (Falta de componentes endocervicales)

Centro	Casos	SBLB con SurePath® - Sin ECC N (%)	SBLB con convencional - Sin ECC N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Todos los centros	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

La detección de las células endocervicales (tabla 16) variaron en los diferentes centros que participaron en el estudio. En términos generales, se observó una diferencia del 1,8% en la detección de células endocervicales, entre la extensión de Papanicolaou convencional y el método SurePath®. Esta diferencia es similar a los estudios anteriores realizados con el método de células divididas^{16,17}.

Los portaobjetos SurePath® producidos con el sistema PrepStain® proporcionan resultados similares a las extensiones de Papanicolaou convencionales, en comparaciones de tipo muestras divididas, entre varias poblaciones de pacientes y varios entornos de laboratorio. Además, se detectó un número considerablemente inferior de casos No satisfactorios y SBLB con los portaobjetos SurePath® en comparación con las extensiones de Papanicolaou convencionales. Consecuentemente, el portaobjetos SurePath® puede utilizarse como sustituto de la extensión de Papanicolaou convencional en la detección de células atípicas, cáncer cervical, sus lesiones precursoras, así como todas las demás categorías citológicas definidas por The Bethesda System.

EVALUACIÓN DE LA PREPARACIÓN DE PORTAOBJETOS SUREPATH® CON PREPMATE® Y MÉTODOS MANUALES

TriPath Imaging llevó a cabo estudios clínicos en varios centros para evaluar dos modificaciones en el método aprobado por la FDA para la preparación de portaobjetos SurePath®. Se realizaron las siguientes modificaciones en el proceso aprobado para preparar portaobjetos SurePath®:

- Adición del PrepMate® *Accessory* (método PrepMate®) que automatiza los pasos manuales iniciales del proceso de laboratorio del PrepStain®. El PrepMate® mezcla y retira automáticamente la muestra de los viales de SurePath® *Preservative*, y la deposita en PrepStain® *Density Reagent*, en una probeta.
- La adición del *Manual Method*, en el cual, en lugar de utilizar el PrepStain® Instrument para la suspensión de las células y tinción del portaobjetos, la suspensión se deposita manualmente encima del portaobjetos y la tinción la realiza un técnico de laboratorio.

Este estudio evaluó más de 400 casos en una comparación ciega de los dos métodos que se presentaban como alternativas al procedimiento actual aprobado para la preparación de portaobjetos SurePath®. La comparación se basó en los criterios morfológicos y de calidad aplicados a los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos.

El estudio tenía dos objetivos principales:

- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los portaobjetos SurePath® preparados con el método PrepMate®, en comparación con portaobjetos preparados con el método aprobado del sistema PrepStain® (conocido como método PrepStain®).
- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los portaobjetos SurePath® preparados con el *Manual Method*, en comparación con portaobjetos preparados con el método aprobado del sistema PrepStain®.

El estudio tenía otros objetivos adicionales:

- Determinar si el grado de concordancia entre el método PrepStain® aprobado y el método PrepMate® era superior a lo que sería de esperar normalmente.
- Determinar si el grado de concordancia entre el método PrepStain® aprobado y el *Manual Method* era superior a lo que sería de esperar normalmente.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del sistema PrepStain® para la preparación de los portaobjetos SurePath® con el método PrepMate®.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del sistema PrepStain® para la preparación de los portaobjetos SurePath® con el *Manual Method*.

PREPMATE® ACCESSORY

PrepMate® es un accesorio para el sistema PrepStain® que automatiza dos pasos manuales: la mezcla y la extensión de la muestra en el proceso de laboratorio del PrepStain®. El PrepMate® mezcla bien, retira con precisión la muestra de los viales SurePath® *Preservative*, y deposita una capa de la muestra en PrepStain® *Density Reagent*, en una probeta. Se coloca una gradilla de viales con muestras, pipetas para dispensar y probetas (con Density fluid) en la bandeja del instrumento. La gradilla admite hasta 12 viales, probetas y pipetas para dispensar, en tres filas de cuatro unidades. Los viales, las pipetas para dispensar y las probetas son desechables y deben utilizarse sólo una vez para eliminar la posibilidad de contaminación de las muestras.

MANUAL METHOD

Este método emplea un procedimiento manual para depositar la suspensión de células en los portaobjetos y teñir la preparación. Los pasos de obtención y procesamiento de las muestras ginecológicas son idénticos para el *Manual Method* y para el método PrepStain® aprobado, hasta la fase de uso del PrepStain® Instrument.

Con el método PrepStain®, los pellets de células centrifugados se colocan directamente en el PrepStain® Instrument para su procesamiento automático, para obtener portaobjetos SurePath® teñidos.

Con el *Manual Method*, se añade agua desionizada al pellet de células centrifugado y luego se coloca en el vórtex para obtener una suspensión y randomizar la muestra. La muestra se transfiere a un settling chamber montado en un SurePath® *PreCoat Slide*. Una vez que la muestra se haya estabilizado en el portaobjetos, se tiñe siguiendo un método de Papanicolaou para tinción de lotes.

DISTRIBUCIÓN DE LOS PORTAOBJETOS

La tabla 17 muestra la distribución de los portaobjetos para estudios clínicos. Es importante tener en cuenta que el estudio consistía en **tres portaobjetos por caso**.

Tabla 17 Distribución de los portaobjetos

	Casos	Portaobjetos
Total de casos reclutados para el estudio	471	1,413
Total de casos excluidos del estudio	–68	–204
Documentación incompleta	–39	–117
Portas preparados incorrectamente	–24	–72
Otros motivos de exclusión *	–5	–15
Total de casos incluidos en el estudio	403	1,209

* Faltaban muestras, había números de paciente duplicados, etc.

DATOS DEMOGRÁFICOS DE LA POBLACIÓN

La tabla 18 muestra los datos demográficos de todas las pacientes que participaron en el estudio.

Tabla 18 Datos demográficos de las pacientes

Edad	Número de casos
19 años o menos	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

La tabla 19 muestra la información clínica actual, y la tabla 20 muestra la historia clínica de todos los casos incluidos en la población estudiada. Nótese que se permitía seleccionar más de un elemento; consecuentemente, es posible que los recuentos totales de los casos no tengan correlación con el número total de casos incluidos en la población estudiada.

Tabla 19 Información clínica actual

Información clínica	Número de casos
Cíclica	241
Ciclo irregular	69
Histerectomía	16
Embarazada	9
Post-aborto	0
Postparto	9
Postmenopáusica	58
Perimenopáusica	1
Inmunodeprimida	0
Presentación ginecológica anormal	0
Pérdidas vaginales	137
Tratamiento para sustitución de estrógeno	19
DIU	2
Contraceptivos orales/implantes	20
Sin contraceptivos	181
Información no disponible	22

Tabla 20 Historia clínica

Historia	Número de casos
Citología anterior anormal	13
Historia de hemorragia anormal	36
Biopsia	3
Historia de cáncer	1
Quimioterapia	0
Radiación	0
Colposcopia	9
VIH/SIDA	0
Papilomavirus (virus de la berruga)	0
Herpes	1
Ligadura bilateral de trompas*	1
Enfermedad pélvica inflamatoria	57
Ninguna observación	363

RESULTADOS DEL ESTUDIO

Este estudio tenía como objetivo establecer que los portaobjetos SurePath® preparados con los métodos PrepMate® y manual daban resultados equivalentes a los de los portaobjetos preparados con el método aprobado PrepStain®. Los datos clínicos muestran que los portaobjetos preparados con los métodos PrepMate® y manual daban resultados comparables, en términos de morfología y calidad, a los de los portaobjetos preparados con el método aprobado PrepStain®.

Los datos clínicos también muestran que los métodos PrepMate® y manual tienen un rendimiento equiparable al método aprobado PrepStain®. Además, no hay diferencia entre la idoneidad de los portaobjetos preparados con los métodos PrepMate® y manual, y los portaobjetos preparados con el método aprobado PrepStain®. Estas determinaciones sostienen la equiparabilidad de los métodos PrepMate® y manual, con el método aprobado PrepStain®.

MORFOLOGÍA Y CALIDAD DE LAS MUESTRAS

La tabla 21 muestra los resultados de los objetivos principales: Se evaluó la idoneidad de los portaobjetos preparados utilizando cada uno de los métodos, teniendo en cuenta los criterios de morfología y calidad indicados en la tabla. Para cada criterio, se calculó la proporción de portaobjetos aceptables junto con el intervalo exacto de confianza del 95% correspondiente.

Tabla 21 Comparación de los índices e intervalos de confianza (IC) para determinar los criterios de idoneidad

Método de preparación de los portaobjetos							
Criterios de idoneidad	PrepStain®		PrepMate®		Manual Method		
	Índice (n/N)	Exacto 95% IC	Índice (n/N)	Exacto 95% IC	Índice (n/N)	Exacto 95% IC	
	Tinción	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973
	Claridad	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999
	Nuclear	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999
	Citología	0,9950 (401/403)	0,9822 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909 1,0000
	Agrupamiento	0,9926 (400/403)	0,9784 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363 0,9771
	Celularidad	0,9305 (375/403)	0,9011 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127 0,9615

Los índices de idoneidad del método PrepMate® y del Manual Method son casi siempre iguales o superiores al índice del método PrepStain®. Además, los intervalos de confianza exactos del 95% correspondientes al método PrepMate® y Manual Method, solapan considerablemente los intervalos del método aprobado del sistema PrepStain® en cada uno de los criterios. Esto significa que los portaobjetos preparados utilizando el método PrepMate® y Manual Method tienen una morfología y calidad que son comparables a las del método aprobado del sistema PrepStain®. Consecuentemente, la calidad de la preparación es la misma tanto en el método aprobado como en los dos métodos sometidos a la prueba.

CONCORDANCIA ENTRE DIAGNÓSTICOS

Este análisis compara los diagnósticos obtenidos de los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos. Dado que estos datos fueron obtenidos con muestras divididas, las matrices de diagnóstico que se muestran en las tablas 22 y 23 están basadas en muestras apareadas, preparadas con cada uno de los métodos (PrepMate® y Manual), que son comparables con el método aprobado PrepStain®. Se espera que el diagnóstico obtenido de los portaobjetos preparados utilizando ambos métodos sea el mismo. Esto queda reflejado por el número de portaobjetos con diagnósticos idénticos que se muestra a lo largo de la diagonal principal de cada tabla.

El primer punto de concordancia es la proporción de portaobjetos en la diagonal principal y los intervalos de confianza exactos del 95% correspondientes. El segundo punto de concordancia se obtiene del índice kappa que se calculó para cada comparación y prueba. La prueba determina si el grado de concordancia entre los dos métodos es mayor de lo que podría esperarse normalmente. Dado que las observaciones están ordenadas, resulta más importante contar con observaciones que se encuentran sobre la diagonal principal, o en su proximidad. El índice kappa ponderado otorga mayor peso a las observaciones que se encuentran sobre la diagonal principal o en su proximidad.

COMPARACIÓN DEL MÉTODO APROBADO PREPSTAIN® CON EL MÉTODO PREPMATE®

En la tabla 22, la diagonal principal tiene 367 portaobjetos (2+334+8+6+5+11+1), y la proporción de portaobjetos a lo largo de la diagonal principal es 0,9107 (367/403) con límites de confianza del 95%, entre 0,8785 y 0,9366.

Si se borran la primera fila y columna de la tabla para eliminar los portaobjetos no satisfactorios, sigue habiendo 397 portaobjetos. La proporción de portaobjetos en la diagonal principal es de 0,9194 (365/397), con límites de confianza del 95% entre 0,8881 y 0,9442.

Los resultados indicados en la tabla 22 muestran que el método aprobado PrepStain® y el método PrepMate® cuentan con una alta proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según indica la proporción de portaobjetos en la diagonal principal de la tabla. El análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mayor de lo que podría esperarse normalmente.

Tabla 22 Tabulación cruzada de diagnósticos obtenidos con los métodos PrepStain® y PrepMate®

		Método de diagnóstico - PrepStain®									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Método de diagnóstico - PrepMate®	UNSAT	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atipia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARACIÓN DEL MÉTODO APROBADO PREPSTAIN® CON EL MANUAL METHOD

En la tabla 23, el número de portaobjetos a lo largo de la diagonal principal es de 353 (3+315+6+10+7+11+1). La proporción de portaobjetos a lo largo de la diagonal principal es de 0,8759 (353/403). Los límites exactos binomiales de confianza del 95% correspondientes a esta proporción son de 0,8397 a 0,9065.

Si se borran la primera fila y columna de la tabla para eliminar los portaobjetos no satisfactorios, sigue habiendo 398 portaobjetos. La proporción de portaobjetos en la diagonal principal es de 0,8794 (350/398), con límites de confianza del 95% entre 0,8433 y 0,9097. Los resultados indicados en la tabla 23 muestran que el método aprobado PrepStain® y el Manual Method cuentan con una alta proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según indica la proporción de portaobjetos a lo largo de la diagonal principal de la tabla. El análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mayor de lo que podría esperarse normalmente. Consecuentemente, los resultados diagnósticos son iguales, tanto en el método aprobado como en los dos métodos sometidos a prueba.

Tabla 23 Tabulación cruzada de diagnósticos obtenidos con los métodos PrepStain® y manual

		Método de diagnóstico - PrepStain®									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico con Manual Method	UNSAT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atipia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

IDONEIDAD DE LOS PORTAOBJETOS

Se evaluó la idoneidad de los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos. Los datos se analizaron con la prueba McNemar de doble banda¹⁸.

La tabla 24 muestra los resultados de la idoneidad obtenidos al comparar el método aprobado PrepStain® con el método PrepMate®.

Tabla 24 Resultados de la idoneidad para portaobjetos preparados con los métodos PrepMate® y PrepStain®

		Resultado del método PrepStain®		
		SAT o SBLB	UNSAT	
Resultado con el método PrepMate	SAT o SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

La tabla 25 muestra los resultados de la idoneidad obtenidos al comparar el método aprobado PrepStain® con el Manual Method.

Tabla 25 Resultados de la idoneidad para portaobjetos preparados con el método PrepStain® y Manual Method

		Resultado del método PrepStain®		
		SAT o SBLB	UNSAT	
Resultado del Manual Method	SAT o SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
			398	5

Estas dos comparaciones demuestran que no hay diferencia entre el método PrepMate® y Manual Method, y el método aprobado del sistema PrepStain® en cuanto a la idoneidad de los portaobjetos.

ESTUDIO DEL MÉTODO “Directo al vial”

Después de la aprobación inicial del sistema PrepStain® por la FDA, TriPath Imaging llevó a cabo un importante estudio con el mismo, con la participación de varios centros, para determinar los resultados cuando se utiliza con muestras en el método “directo al vial”. En los estudios clínicos anteriores se había utilizado el método de muestras divididas, en el cual la muestra se utiliza primero para crear un portaobjetos de Papanicolaou convencional, y el resto de la muestra se deposita en SurePath® Collection Fluid y se procesa con el sistema PrepStain® para crear un portaobjetos SurePath®. Es bien conocido que las preparaciones de tipo muestra dividida subestiman el rendimiento real de la prueba, ya que ésta se prepara con material celular residual¹².

En este estudio se compararon los resultados obtenidos con los portaobjetos SurePath® creados con muestras de tipo “directo al vial”, con las extensiones de Papanicolaou convencionales. Los resultados obtenidos con los portaobjetos SurePath® fueron comparados con los obtenidos de un grupo anterior de extensiones de Papanicolaou convencionales. En concreto, este estudio evaluó si los portaobjetos SurePath® mejoraban la detección de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL), de adenocarcinoma in situ, y de cáncer (HSIL+). Se recopilaron todos los datos de biopsia disponibles para ambos grupos de portaobjetos.

La población SurePath® consistía en 58.580 portaobjetos procedentes de 57 clínicas que habían convertido casi el 100% de sus obtenciones, del método convencional de extensiones de Papanicolaou al método SurePath®. Las muestras obtenidas de estas clínicas se enviaron a tres centros para su procesamiento.

La población convencional consistía en 58.988 portaobjetos procedentes de las mismas clínicas que los portaobjetos SurePath®. Esta población histórica se obtuvo empezando por los portaobjetos más recientes antes de la transición de las clínicas a SurePath®, y luego retrocediendo hasta obtener una población de portaobjetos convencionales y SurePath® numéricamente igual de cada clínica.

Los resultados de este estudio indicaron un índice de detección de 405/58.580 para los portaobjetos SurePath® en comparación con 248/58.988 para los portaobjetos convencionales, dando como resultado índices de detección del 0,691% y 0,420%, respectivamente (ver la tabla 26). Para estos centros clínicos y estas poblaciones de estudio, esta diferencia indica un aumento del 64,4% (p<0,00001) en la detección de lesiones HSIL+ con las muestras SurePath®.

Tabla 26 Comparación de los índices de detección según centros

HSIL+

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	HSIL+	Porcentaje (%)	Total	HSIL+	Porcentaje (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Total	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	LSIL+	Porcentaje (%)	Total	LSIL+	Porcentaje (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Total	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	ASCUS+	Porcentaje (%)	Total	ASCUS+	Porcentaje (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Total	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

No satisfactorios

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	UNSAT+	Porcentaje (%)	Total	UNSAT+	Porcentaje (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Total	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Nota: Se esperan variaciones entre centros. Cada laboratorio debe controlar la calidad de su trabajo con mucho cuidado.

PROCEDIMIENTO

En el documento PrepStain® Operator's Manual (Manual del usuario del sistema PrepStain®) encontrará instrucciones completas para la preparación de portaobjetos SurePath®.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NOMBRE Y SEDE

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 EE.UU.
(800) 426-2176

TRIPATH IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215. EE.UU.
Para obtener información sobre PrepStain®: 1-800-426-2176 ó 336-222-9707
Fax.: 336-222-8819.
Números de patentes en EE.UU.: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Números de patentes en Canadá: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Números de patentes en Japón: 2837076, 2781513.
Números de patentes en Europa: 0590504, 0590447, 0590506B.
Otras patentes en trámite en EE.UU. y en otros países.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

USO PREVISTO

Il sistema PrepStain® (precedentemente conosciuto come sistema AutoCyte® PREP) è un procedimento di allestimento di preparati cellulari a strato sottile e base liquida. Il sistema PrepStain® genera i SurePath® Slides da usarsi in sostituzione dei convenzionali Pap smear ginecologici. I SurePath® Slides (precedentemente detti vetrini AutoCyte® PREP) devono essere usati nello screening e nell'individuazione del carcinoma cervicale, delle lesioni precancerose, delle cellule atipiche nonché di tutte le altre categorie citologiche secondo quanto definito dal *Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses*.^{1,19}

RIEPILOGO E PRINCIPI DI BASE DELLA PROCEDURA

Il sistema PrepStain® converte la sospensione liquida di un campione di cellule cervicali in un sottile strato omogeneo di cellule, colorato in modo discreto pur mantenendo cluster di cellule diagnostiche.²⁻⁹ Il procedimento prevede la conservazione delle cellule, la randomizzazione, l'arricchimento del materiale diagnostico, la pipettatura, la sedimentazione, la colorazione e il montaggio dei vetrini coprioggetti per creare un SurePath® Slide da usare nello screening citologico di routine e nella categorizzazione secondo quanto definito dal Bethesda System.¹ Il SurePath® Slide presenta una popolazione ben conservata di cellule colorate disposte su di un'area circolare avente un diametro di 13 mm. L'artefatto per essiccazione all'aria, l'oscuramento, la sovrapposizione del materiale cellulare e i detriti sono ampiamente eliminati. I numeri di leucociti si riducono sensibilmente, consentendo una visualizzazione più agevole delle cellule epiteliali, delle cellule diagnosticamente pertinenti e di organismi infettanti.

Il procedimento SurePath® ha inizio con il prelievo di un campione ginecologico da parte di personale medico qualificato che utilizza un dispositivo di prelievo tipo cervix brush (ad esempio, Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss – Paesi Bassi) o una combinazione spazzola endocervicale/spatola di plastica (per esempio, Cytobrush® Plus GT e spatola Pap Perfect®, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) con una o più teste staccabili per raccogliere un campione ginecologico. Anziché strisciare le cellule prelevate con i dispositivi di prelievo su un vetrino, le teste dei dispositivi di prelievo si staccano dall'impugnatura e vengono messe in una fiala di SurePath® Preservative Fluid. La fiala viene chiusa, etichettata ed inviata unitamente alla documentazione appropriata al laboratorio per la processazione. Le teste dei dispositivi di prelievo non sono mai rimosse dalla fiala conservante che contiene il campione prelevato.

In laboratorio, il campione conservato viene mescolato su vortex e trasferito nel PrepStain® Density Reagent. La fase di arricchimento, consistente nella sedimentazione centrifuga mediante Density Reagent, rimuove parzialmente i detriti non diagnostici e l'eccesso di cellule infiammatorie dal campione. Dopo la centrifugazione, le cellule precipitate vengono risospese, miscelate e trasferite nella PrepStain® Settling Chamber fissata sul SurePath® PreCoat slide. Le cellule sono sedimentate per gravità, quindi sono colorate mediante procedura di colorazione di Papanicolaou adattata. Il vetrino viene chiarificato con xilene o un sostituto dello xilene e quindi viene montato il coprioggetto. Le cellule, disposte in un cerchio del diametro di 13 mm, vengono esaminate al microscopio da tecnici di citologia e da medici patologi qualificati che analizzano anche altre informazioni di base pertinenti alla paziente.

LIMITAZIONI

- I campioni ginecologici per l'allestimento con il sistema PrepStain® devono essere prelevati utilizzando un dispositivo del tipo cervix brush o una combinazione spazzola endocervicale/spatola di plastica con una o più teste staccabili secondo la procedura di prelievo prevista dal produttore del dispositivo. Con il sistema PrepStain® non usare spatole di legno né combinazioni spazzola endocervicale/spatola di plastica non staccabili.
- Una formazione adeguata sotto la guida di persone autorizzate è un requisito fondamentale per poter preparare ed esaminare i SurePath® Slides. I tecnici di citologia e i medici patologi saranno addestrati a valutare la morfologia delle cellule sui SurePath® Slides. La formazione prevede un esame di competenza. Alle clienti del laboratorio verranno forniti set informativi sui vetrini e sul test. La TriPath Imaging®, Inc. assisterà inoltre i clienti nella preparazione di vetrini di training ottenuti dalle specifiche popolazioni di pazienti.
- Il funzionamento appropriato del sistema PrepStain® richiede l'uso esclusivo delle forniture supportate dalla TriPath Imaging o raccomandate dalla TriPath Imaging per l'uso con il sistema PrepStain®. Si devono smaltire le forniture usate in modo appropriato conformemente alle normative istituzionali e governative vigenti.
- Tutte le forniture sono monouso e non riutilizzabili.

Reagenti



Per uso diagnostico in vitro. Esclusivamente per uso in laboratorio.

Avvertenze



SurePath® Preservative Fluid contiene una soluzione diluita di etanolo denaturato. La miscela contiene piccole quantità di metanolo ed isopropanolo. Non ingerire.



PrepStain® Density Reagent contiene sodio azide. Non ingerire. La sodio azide può reagire con il piombo o il rame dei tubi formando azidi metalliche altamente esplosive. Nello scarico, per evitare accumulo di azidi, far scorrere abbondanti quantità d'acqua. Per ulteriori informazioni riferirsi alla pubblicazione DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, edita dai Centers for Disease Control. Consultare il sito web: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Il colorante per citologia PrepStain® EA/OG contiene alcol. Tossico se ingerito. Non respirare i vapori. Utilizzarlo in condizioni di adeguata ventilazione. Evitare il contatto con pelle ed occhi. Altamente infiammabile.

PRECAUZIONI

- Si devono seguire adeguate pratiche di laboratorio ed è richiesta la stretta osservanza di tutte le procedure per l'uso del sistema PrepStain®.
- Conservare i reagenti a temperatura ambiente (15°-30°C) e utilizzarli prima delle date di scadenza onde garantire un rendimento ottimale. Il SurePath® Preservative Fluid senza campioni citologici può essere conservato fino a 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (15°-30°C). Il SurePath® Preservative Fluid con campioni citologici può essere conservato per 6 mesi in frigorifero (2°-10°C) o 4 settimane a temperatura ambiente (15°-30°C).
- Evitare schizzi o generazione di aerosol. Gli operatori devono utilizzare indumenti di protezione adeguati nonché dispositivi di protezione per le mani e gli occhi.
- Il SurePath® Preservative Fluid è stato analizzato per determinare l'efficacia antimicrobica contro: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis e Aspergillus ed è risultato efficace. I campioni SurePath® Preservative inoculati con 10⁶ di CFU/ml di ciascuna specie non hanno prodotto alcuna crescita dopo 14 giorni (28 giorni per il Mycobacterium tuberculosis) di incubazione in condizioni standard. Tuttavia, si devono sempre adottare le misure precauzionali standard per la manipolazione sicura dei fluidi biologici.
- La mancata osservazione delle procedure raccomandate secondo quanto descritto nel Manuale per l'operatore del sistema PrepStain® può inficiare il rendimento.

MATERIALI NECESSARI

Consultare il Manuale per l'operatore del sistema PrepStain® per informazioni dettagliate riguardanti i reagenti, i componenti e gli accessori. Non tutti i materiali elencati di seguito sono necessari per l'allestimento manuale dei SurePath® Slides (senza l'uso dello strumento PrepStain®).

Materiali forniti

- PrepStain® Instrument
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (comprende il SurePath® Preservative Fluid)
- Uno o più dispositivi di prelievo cervicale con una o più teste staccabili
- PrepStain® Density Reagent
- PrepStain® Syringing Pipettes
- PrepStain® Settling Chambers
- Cytology Stain Kit
- SurePath® PreCoat slides
- Centrifuge Tubes
- Slide Racks e Tube Racks
- Disposable Transfer Tips e Aspirator Tips

Materiali necessari ma non forniti

- Vortex Mixer
- Acqua deionizzata (pH 7,5-8,5)
- Isopropanolo e alcool per reagenti
- Diafinizzante, mezzo di montaggio e vetrini coprioggetti

Conservazione

Il SurePath® Preservative Fluid senza campioni citologici può essere conservato fino a 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (15°-30°C).

Il SurePath® Preservative Fluid con campioni citologici può essere conservato per 6 mesi in frigorifero (2°-10°C) o 4 settimane a temperatura ambiente (15°-30°C).

INTERPRETAZIONE DIAGNOSTICA E ADEGUATEZZA DELL'ALLESTIMENTO

Dopo la formazione dell'utente autorizzata dalla TriPath Imaging per l'uso del sistema PrepStain® e dei SurePath® Slides, ai SurePath® Slides vengono applicati i criteri diagnostici di citologia del Bethesda System attualmente in uso nei laboratori di citologia per i Pap smear convenzionali.¹ Le nuove linee guida del Bethesda 2001 Reporting System riguardano le preparazioni a base liquida e definiscono il metodo per determinare una cellularità adeguata specificamente per queste preparazioni.

In assenza di cellule anomale, il preparato è considerato inadeguato in presenza di una o più delle condizioni descritte di seguito.

- (1) Numeri inadeguati di cellule diagnostiche (meno di 5.000 cellule squamose epiteliali per preparato). Segue la descrizione delle procedure raccomandate per la stima del conteggio di cellule dell'epitelio squamoso ben conservate sui SurePath® Slides.
- Per ciascun modello di microscopio usato nello screening, controllare il manuale del produttore del microscopio oppure contattare il produttore del microscopio per stabilire l'area del campo visivo utilizzando l'oculare preferito e l'obiettivo 40x. In alternativa, calcolare l'area del campo utilizzando un emocitometro o una scala di misurazione dei vetrini similare (area del campo = πr^2 , dove r è il raggio del campo).
 - La media minima del numero di cellule per il campo dell'obiettivo 40x deve essere stabilita dividendo l'area approssimata di deposito delle cellule pari a 130 mm² del SurePath® Slide per l'area del campo dello specifico microscopio. Il numero derivato viene quindi diviso nelle 5.000 cellule che rappresentano il numero minimo. Il numero che ne risulta equivale alla media minima consigliata del numero adeguato di cellule epiteliali nel campo visivo dell'obiettivo 40x. Registrare tale numero e conservarlo per i tecnici di citologia che lo utilizzeranno come riferimento. Le linee guida Bethesda 2001 indicano il numero approssimativo di cellule per campo per una preparazione da 13 mm.
 - Si devono contare almeno dieci campi orizzontalmente o verticalmente al centro del diametro della preparazione.
 - Come mezzo pratico di valutazione della cellularità, è possibile utilizzare la valutazione macroscopica della densità ottica del preparato colorato per verificare l'adeguatezza degli allestimenti. Tuttavia, non esiste alcun sostituto per la principale valutazione microscopica eseguita dal tecnico di citologia nel corso del procedimento di screening.

- (2) Il 75% o più dei componenti cellulari viene oscurato da infiammazione, sangue, batteri, muco o da un artefatto che impedisce l'interpretazione citologica del vetrino.

Eventuali osservazioni di screening anomalo o incerto devono essere indirizzate ad un tecnico di patologia per l'esame e la diagnosi. Il patologo deve osservare eventuali cambiamenti morfologici cellulari diagnosticamente significativi.

CARATTERISTICHE E PRESTAZIONI: STUDI CLINICI

PRIMO STUDIO DI CAMPIONI ANALIZZATI CON DUE METODI (SPLIT-SAMPLE)

La TriPath Imaging ha condotto uno studio clinico crociato, split-sample, in cieco e prospettivo in più siti per confrontare i risultati diagnostici dei SurePath® Slides prodotti con il sistema PrepStain® con quelli dei Pap smear allestiti in modo tradizionale. L'obiettivo dello studio è stato di valutare il rendimento del sistema SurePath® rispetto al Pap smear convenzionale nell'individuazione del carcinoma cervicale, delle lesioni precancerose e delle cellule atipiche in svariate popolazioni di pazienti e strutture di laboratorio. Per entrambi i preparati si è valutata altresì l'adeguatezza.

Conformemente alle raccomandazioni del documento "Points to Consider" della FDA per i dispositivi di citologia cervicale,¹⁰ è stato preparato innanzitutto il Pap smear convenzionale e quindi il campione rimanente sul dispositivo di prelievo di tipo cervex brush è stato depositato nella fiala di prelievo SurePath® Preservative Fluid.

Dopo il trasporto al laboratorio, ogni sospensione cellulare conservata è stata elaborata secondo il protocollo del sistema PrepStain®. Il SurePath® Slide risultante e il corrispondente vetrino del Pap smear convenzionale sono stati esaminati manualmente e diagnosticati in modo indipendente utilizzando categorie diagnostiche conformi al Bethesda System. In ciascun sito, un patologo ha valutato tutti i vetrini anomali.

Coerentemente con la tecnica descritta da Shatzkin,¹¹ per questo studio si è ricorsi all'aiuto di un patologo indipendente in un sito designato di riferimento, il quale ha revisionato in cieco tutti i casi anomali e discrepanti, i casi di riparazione e il 5% dei casi normali di tutti i siti al fine di fornire una "verità" diagnostica per ciascun caso.

CARATTERISTICHE DELLE PAZIENTI

Le età delle donne incluse nello studio erano comprese tra 16 e 87 anni, con 772 soggetti in post-menopausa. Delle 8.807 pazienti rappresentate nello studio, 1.059 presentavano una storia di precedenti Pap smear anomali. L'intera popolazione oggetto di studio consisteva dei seguenti gruppi razziali: caucasico (44%), nero (30%), asiatico (12%), ispanico (10%), indiani indigeni dell'America settentrionale (3%) ed altri (1%).

Le esclusioni sono avvenute in caso di documentazione errata, pazienti al di sotto dei 16 anni, pazienti con isterectomie e campioni citologicamente inaccettabili e inadeguati. Si è fatto uno sforzo per includere quanti più casi possibili di carcinoma cervicale e patologie precancerose invitando pazienti ad alto rischio, sottoposte a screening sporadici e con richiesta di visita specialistica.

Dei 10.335 casi, 9.046 sono stati accettati e valutati negli otto siti diversi di studio. Dei 9.046 casi, 8.807 soddisfacevano i requisiti del Bethesda System in relazione all'adeguatezza dell'allestimento ed erano disponibili per la diagnosi di entrambi i preparati.

RISULTATI DELLO STUDIO

L'obiettivo dello studio clinico è stato di confrontare il rendimento dei SurePath® Slides prodotti con il sistema PrepStain® con il rendimento dei Pap smear preparati tradizionalmente. I vetrini di entrambi i tipi di preparati sono stati classificati secondo i criteri del Bethesda System. Il protocollo per lo studio è stato influenzato a favore del Pap smear convenzionale poiché il Pap smear convenzionale veniva sempre preparato per primo, utilizzando poi il materiale residuo sul dispositivo tipo cervex brush (la parte del campione che normalmente si sarebbe eliminata) per il SurePath® Slide.¹² L'uso previsto del test SurePath® è un'applicazione direct-to-vial in cui tutte le cellule prelevate saranno disponibili per il sistema PrepStain®.

Per confrontare la sensibilità dei SurePath® Slides e dei Pap smear convenzionali in caso di lettura manuale, il patologo di riferimento ha determinato il livello di anomalia per i casi e li ha confrontati con le diagnosi fatte dai siti di studio. La diagnosi di riferimento si è basata sulla diagnosi maggiormente anomala di entrambi gli allestimenti dei vetrini eseguiti dal patologo indipendente di riferimento. Questo risultato è stato utilizzato come diagnosi "veritiera" o valore di riferimento per il confronto dei risultati del sito utilizzando l'allestimento dei SurePath® Slides col sistema PrepStain® in contrapposizione al preparato Pap smear convenzionale. L'ipotesi nulla che le sensibilità delle due tecniche di allestimento dei vetrini fossero equivalenti è stata analizzata mediante il test del chi-quadrato di McNemar per le coppie di valori.¹³ In questo test statistico, si è eseguito il confronto dei risultati discrepanti per i due metodi di allestimento.

La Tabella 1 presenta un confronto diretto dei risultati di tutti i siti per i SurePath® Slides contrapposti a quelli dei vetrini convenzionali per le categorie di trattamento diagnostico: Within Normal Limits (WNL), Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance (ASCUS/AGUS), Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL) e Cancer (CA).

Tabella 1 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): 8.807 coppie di campioni – Confronto risultati dei siti – Nessun patologo di riferimento

Risultati per sito								
Sito n.	Tipo di vetrino	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	N. totale
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
N. totale	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®
CN = Convenzionale

La Tabella 2 presenta un confronto diretto dei risultati di tutti i siti per la tecnica di allestimento SurePath® in contrapposizione all'allestimento del Pap smear convenzionale per tutte le categorie diagnostiche di trattamento.

Tabella 2 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): 8.807 coppie di campioni
Confronto risultati di tutti i siti – Nessun patologo di riferimento

Pap Smear allestito in modo tradizionale							
	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	N. totale
WNL	7.290	361	20	63	24	1	7.759
ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
AGUS	26	6	4	0	0	0	36
LSIL	87	52	2	147	53	1	342
HSIL	20	10	7	17	79	2	135
CA	2	1	2	0	6	15	26
N. totale	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SurePath®
Slide allestito
con sistema
PrepStain®

Nelle Tabelle 1 o 2 non sono riportati i risultati del patologo di riferimento indipendente.

Tabella 3 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Confronto dei risultati di tutti i siti per i casi definiti dal metodo di riferimento come ASCUS/AGUS – Analisi errori discordanti

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	113	205	318
	Errore	180	229	409
		293	434	727

Riuscito = ASCUS/AGUS

Errore = WNL & Reactive/Reparative

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$

Errori test convenzionale: 205

Errori test SurePath®: 180

La Tabella 3 presenta i risultati per i casi identificati dal patologo di riferimento come ASCUS o AGUS. Questa valutazione consente l'analisi degli errori discordanti per stimare la sensibilità dei metodi nella progettazione dello studio split-sample. Gli errori comprendono WNL e *Reactive/Reparative*. Dato che il valore p stabilito dal test McNemar superava lo 0,05, i risultati ottenuti con il sistema SurePath® e il Pap smear convenzionale erano equivalenti.

Tabella 4 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Confronto dei risultati di tutti i siti per i casi definiti dal metodo di riferimento come LSIL – Analisi errori discordanti

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	140	63	203
	Errore	54	86	140
		194	149	343

Riuscito = LSIL

Errore = WNL, Reactive/Reparative e ASCUS/AGUS

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Errori test convenzionale: 63

Errori test SurePath®: 54

La Tabella 4 presenta i risultati per i casi identificati dal patologo di riferimento come LSIL. Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative* e ASCUS/AGUS. Come con ASCUS/AGUS, la sensibilità dei due metodi nello studio split-sample è risultata statisticamente equivalente, con un valore p superiore allo 0,05.

Tabella 5 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Confronto dei risultati di tutti i siti per i casi definiti dal metodo di riferimento come HSIL + Analisi errori discordanti (LSIL non è un errore)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	160	28	188
	Errore	36	38	74
		196	66	262

Riuscito = HSIL+

Errore = WNL, Reactive/Reparative e ASCUS/AGUS

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Errori test convenzionale: 28

Errori test SurePath®: 36

La Tabella 5 presenta i risultati per i casi identificati dal patologo di riferimento come HSIL +. In questo confronto, LSIL non è stato considerato come un errore ma piuttosto una discrepanza.^{10,14,15} Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative* e ASCUS/AGUS. L'analisi della sensibilità degli errori discordanti ha mostrato un'equivalenza statistica dei metodi nello studio split-sample.

Tabella 6 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Analisi degli errori discordanti per i casi di cancro (HSIL non è un errore; LSIL è considerato un errore)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	19	2	21
	Errore	5	1	6
		24	3	27

Riuscito = Cancro

Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Errori test convenzionale: 2

Errori test SurePath®: 5

La Tabella 6 presenta i risultati (di tutti i siti) indicati come cancro dal metodo di riferimento. Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS e LSIL. L'analisi della sensibilità degli errori discordanti ha mostrato un'equivalenza statistica dei metodi. Questi 27 casi di cancro sono stati inclusi nello studio di rivalutazione. I relativi dati sono reperibili nella Tabella 9.

Tabella 7 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Confronto dei risultati di tutti i siti per i casi definiti dal metodo di riferimento come HSIL + Analisi errori discordanti (LSIL è stato considerato un errore in questa analisi)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	94	33	127
	Errore	67	68	135
		161	101	262

Riuscito = (HSIL+)

Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Errori test convenzionale: 33

Errori test SurePath®: 67

La Tabella 7 presenta i risultati per i casi identificati dal patologo di riferimento come HSIL+. Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS e LSIL. Anche se non conformemente al protocollo originale dello studio,¹⁰ è stato effettuato un confronto statistico dei metodi in cui LSIL era considerato come un errore diagnostico per un caso indicato come HSIL+ dal patologo di riferimento indipendente. In questo confronto statistico delle sensibilità diagnostiche, quando LSIL viene considerato come un errore anziché una discrepanza di poca importanza, i SurePath® Slides allestiti con il sistema PrepStain® non sarebbero equivalenti al Pap smear preparato in modo tradizionale per il rilevamento dell'anormalità di HSIL+ nello studio *split-sample*.

RIESAME IN CIECO DEI CASI DI HSIL+

È stato condotto un nuovo esame per stabilire se i risultati erano influenzati dalla qualità dell'allestimento o da una interpretazione soggettiva. Per valutare i 262 casi diagnosticati come HSIL+ nello studio iniziale (Tabella 7), è stato condotto un altro esame dopo un nuovo programma di formazione per tecnici di citologia atto ad evidenziare l'interpretazione coerente tra i gruppi diagnostici del *Bethesda System*. Questi casi di HSIL+ sono stati rimascherati come parte del nuovo esame composto da un totale di 2.438 campioni preparati utilizzando lo stesso protocollo di split-sample. I risultati del sito oggetto di studio per i due allestimenti sono stati quindi confrontati con un nuovo valore di riferimento richiedente il consenso di almeno altri due dei tre patologi indipendenti di riferimento per la diagnosi di citologia maggiormente anomala.

Nel procedimento di riferimento per il nuovo esame, entrambi gli allestimenti dei vetrini dei casi discordanti (SurePath® Slides preparati con sistema PrepStain® e vetrini preparati in modo tradizionale) sono stati rianalizzati da un secondo tecnico di citologia, e le nuove anomalie identificate sono state integrate in quelle dello screening iniziale. Tre citopatologi di riferimento hanno quindi esaminato tutti i casi discordi secondo un protocollo in cieco. Questo metodo di riferimento più rigido ha portato il numero di casi di riferimento HSIL+ da 262 nello studio iniziale a 209 nel riesame. La differenza dei 53 casi può essere spiegata nel seguente modo:

48 casi sono stati diagnosticati da un metodo di riferimento più rigido come LSIL o meno severo; l'adeguatezza di 3 casi è stata indicata come inadeguata dopo il nuovo esame e gli altri 2 casi non erano disponibili per la valutazione nello studio di rivalutazione in cieco.

Tabella 8 Studio di rivalutazione: Analisi degli errori discordanti per 209 casi originali HSIL+ riesaminati con criteri di riferimento più rigidi e per cui sono stati interessati tre patologi indipendenti di riferimento

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	153	26	179
	Errore	24	6	30
		177	32	209

Riuscito = HSIL+

Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Errori test convenzionale: 26

Errori test SurePath®: 24

La Tabella 8 presenta i risultati per i casi identificati dal patologo di riferimento come HSIL+. Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS e LSIL. In questo confronto, LSIL è stato considerato un errore diagnostico in contrapposizione al caso indicato come HSIL+ dal patologo indipendente di riferimento. Il confronto delle sensibilità diagnostiche ha dimostrato l'equivalenza statistica tra i due metodi.

Tabella 9 Studio di rivalutazione: Analisi degli errori discordanti per i casi di cancro (HSIL non è un errore; LSIL è considerato un errore)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	32	3	35
	Errore	3	0	3
		35	3	38

Riuscito = Cancro

Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Errori test convenzionale: 3

Errori test SurePath®: 3

La Tabella 9 presenta i risultati indicati come cancro dal metodo di riferimento (tutti i siti). Gli errori comprendono WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL. Un errore risultava da un'interpretazione di LSIL. Tutti gli altri errori riguardavano l'interpretazione di vetrini come ASCUS/AGUS o WNL. L'analisi della sensibilità degli errori discordanti ha mostrato un'equivalenza statistica dei metodi.

Il nuovo esame in cieco comprendeva 2.097 nuovi casi utilizzati per rimascherare i campioni iniziali di HSIL+. L'analisi e il confronto degli allestimenti di questi nuovi casi sono presentati nella Tabella 10.

Tabella 10 Studio di rivalutazione: Confronto diretto dei 2097 risultati dei siti – Nessun patologo di riferimento

		Pap Smear allestito in modo tradizionale						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	N. totale
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	WNL	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	N. totale	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Dei 2.097 nuovi casi sopra descritti, 77 sono stati diagnosticati come HSIL+ dai patologi di riferimento. La Tabella 11 presenta l'analisi della sensibilità per i 77 casi di HSIL+.

Tabella 11 Studio di rivalutazione: Confronto dei risultati di tutti i siti per i casi definiti dal metodo di riferimento come HSIL + Analisi errori discordanti (LSIL è stato considerato un errore in questa analisi)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	Riuscito	25	21	46
	Errore	21	10	31
		46	31	77

Riuscito = HSIL+

Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Errori test convenzionale: 21

Errori test SurePath®: 21

L'analisi degli errori discordanti della Tabella 11 presenta un numero uguale di casi HSIL+ mancati per entrambi i metodi di allestimento. Gli errori comprendono WNL, *Reactive/Reparative*, ASCUS/AGUS e LSIL. Il test statistico ha dimostrato l'equivalenza tra i due metodi nello studio split-sample anche quando LSIL è considerato un errore rispetto al valore di riferimento di HSIL+.

La Tabella 12 riassume le diagnosi descrittive dei risultati di casi benigni per tutti i siti.

Tabella 12 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Riepilogo delle alterazioni cellulari benigne

Diagnosi descrittiva (Numero di pazienti: 8.807)	SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®		Vetrino allestito in modo tradizionale	
	N	%	N	%
Alterazioni cellulari benigne				
*Infezione:				
Specie di <i>Candida</i>	440	5.0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1.3	202	2,3
Herpes	8	0.1	6	0,1
Gardnerella	85	1.0	44	0,5
Specie di <i>Actinomyces</i>	6	0.1	2	<0,1
Batteri (altri)	52	0.6	191	2,2
**Alterazioni riparatrici reattive	424	4.8	319	3,6

* Per la precedente categoria di infezione, sono riportate le osservazioni relative agli agenti infettivi. È possibile che sia rappresentata più di una classe di organismo per caso.

** Le alterazioni riparatrici reattive comprendevano le alterazioni reattive associate ad infiammazione, vaginite atrofica, radiazione e uso di IUD (dispositivo anticoncezionale intrauterino) come pure riparazioni tipiche inerenti alle cellule dell'epitelio squamoso, cellule metaplastiche dell'epitelio squamoso o cellule dell'epitelio cilindrico.

Complessivamente 8.807 casi non comprendevano la valutazione di "inadeguato" da parte dei siti dello studio o di riferimento. Gli altri 239 campioni sono stati indicati come "inadeguati" dai siti di studio o dal sito di riferimento o da entrambi per uno o entrambi gli allestimenti. Dei 239 casi inadeguati, 151 sono stati osservati solo su vetrini convenzionali, 70 solo sul sistema SurePath® e 18 sono stati rilevati sui vetrini convenzionali e SurePath®. Tutti i casi inadeguati sono stati esclusi dal confronto diagnostico con le categorie del Bethesda System, anche se sono stati reintegrati per il confronto dell'adeguatezza dell'allestimento.

Le Tabelle 13-16 mostrano i risultati relativi all'adeguatezza dell'allestimento per tutti i siti.

Tabella 13 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Risultati relativi all'adeguatezza dell'allestimento

Adeguatezza dell'allestimento (Numero di pazienti: 9.046)	SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®		Vetrino allestito in modo tradizionale	
	N	%	N	%
Adeguito	7.607	84,1	6.468	71,5
Adeguito ma limitato da:	1.385	15,3	2.489	27,5
Componente endocervicale assente	1.283	14,2	1118	12,4
Artefatto per essiccazione all'aria	0	0	17	0,2
Striscio denso	1	< 0,1	0	0
Sangue oscurante	53	0,6	121	1,3
Infiammazione oscurante	102	1,1	310	3,4
Cellule dell'epitelio squamoso insufficienti	4	< 0,1	7	0,1
Citolisi	10	0,1	11	0,1
Assenza di storia clinica	0	0	0	0
Non specificato	60	0,7	1.018	11,3
Inadeguato ai fini della valutazione	54	0,6	89	1,0
Componente endocervicale assente	42	0,5	42	0,5
Artefatto per essiccazione all'aria	0	0	0	0
Striscio denso	0	0	2	< 0,1
Sangue oscurante	7	0,1	6	0,1
Infiammazione oscurante	6	0,1	6	0,1
Cellule dell'epitelio squamoso insufficienti	6	0,1	0	0
Citolisi	0	0	1	< 0,1
Assenza di storia clinica	0	0	0	0
Non specificato	37	0,4	32	0,5

Nota: per alcune pazienti esiste più di una categoria secondaria.

Altri casi inadeguati sono stati stabiliti dal patologo di riferimento e i numeri totali di risultati inadeguati sono riportati nella Tabella 15. Nella tabella, SAT = adeguato, SBLB = adeguato ma limitato da (una certa condizione specifica) e UNSAT = inadeguato.

Tabella 14 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Riepilogo dei risultati relativi all'adeguatezza dei preparati di tutti i siti dello studio clinico

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		SAT	SBLB	UNSAT
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	SAT	5.868	1.693	46
	SBLB	579	772	34
	UNSAT	21	24	9
		6.468	2.489	89

UNSAT: risultato del test di McNemar χ^2 mc = 9,33; p = 0,0023
SBLB: risultato del test di McNemar χ^2 mc = 546,21; p = 0,0000

La Tabella 14 mostra i risultati del confronto sull'adeguatezza dell'allestimento con entrambi i metodi. È stato riscontrato un numero decisamente inferiore di casi inadeguati e SBLB coi SurePath® Slides rispetto a quanto rilevato coi vetrini convenzionali.

Tabella 15 Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample): Confronto dei risultati inadeguati provenienti dai siti dello studio clinico e dal sito di riferimento

		Vetrino allestito in modo tradizionale	
		SAT	UNSAT
SurePath® Slide allestito con sistema PrepStain®	SAT	8.807	151
	UNSAT	70	18
		8.877	169

Risultato del test di McNemar χ^2 mc = 29,69; p = 0,0000

Nella Tabella 15 è presentato il confronto degli allestimenti adeguati e inadeguati esaminati nei siti dello studio e nel sito di riferimento. Rispetto ai vetrini convenzionali i SurePath® Slides mostrano una riduzione statisticamente significativa di casi inadeguati.

Tabella 16 Risultati relativi all'adeguatezza dell'allestimento per sito – Classificazioni SBLB per Componente endocervicale assente (ECC)

Sito	Casi	SBLB SurePath® ECC assente N. (%)	SBLB Convenzionale ECC assente N. (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Tutti i siti	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Il rilevamento di cellule endocervicali (Tabella 16) è risultato diverso nei vari siti dello studio. Complessivamente, si è constatata una differenza dell'1,8% nel rilevamento di cellule endocervicali tra i metodi Pap smear convenzionale e SurePath®, che è simile a quella notata negli studi precedenti con metodologia split-sample.^{16,17}

I SurePath® Slides prodotti con il sistema PrepStain® danno origine a risultati simili a quelli ottenuti con i Pap smear convenzionali nei confronti split-sample in svariate popolazioni di pazienti e strutture laboratoriali. È stato inoltre riscontrato un numero decisamente inferiore di casi inadeguati e di SBLB coi SurePath® Slides rispetto a quanto rilevato coi Pap smear convenzionali. Il SurePath® Slide può essere quindi usato in sostituzione del Pap smear convenzionale per il rilevamento di cellule atipiche, di lesioni precancerose, di carcinoma cervicale e di tutte le altre categorie citologiche definite dal Bethesda System.

VALUTAZIONE DELL'ALLESTIMENTO DEI SUREPATH® SLIDES CON I METODI PREPMATE® E MANUALE

La TriPath Imaging ha condotto uno studio clinico, prospettivo, in più centri per valutare due modifiche relative alla procedura approvata dalla FDA di allestimento dei SurePath® Slides. Le modifiche al procedimento approvato per l'allestimento dei SurePath® Slides sono descritte di seguito.

- L'integrazione dell'accessorio PrepMate® (metodo PrepMate®), che automatizza le fasi iniziali manuali del procedimento di laboratorio PrepStain®. Il PrepMate® miscela e rimuove automaticamente il campione dalle SurePath® Preservative Vials e stratifica il campione sul PrepStain® Density Reagent in una provetta.
- L'integrazione del metodo manuale (Manual Method), in cui, anziché usare lo strumento PrepStain® per la sospensione cellulare e la colorazione dei vetrini, la sospensione cellulare viene stratificata manualmente sul vetrino e colorata da un tecnico di laboratorio.

Questo studio ha esaminato più di 400 casi in un confronto in cieco dei due metodi alternativi secondo la procedura attualmente approvata per la preparazione dei SurePath® Slides. Per il confronto ci si è basati su criteri di morfologia e qualità validi per i vetrini allestiti con ciascun metodo.

Gli obiettivi principali dello studio sono stati di:

- valutare gli aspetti inerenti alla morfologia e alla qualità dei SurePath® Slides allestiti utilizzando il metodo PrepMate® rispetto ai vetrini allestiti con il metodo approvato di utilizzo del sistema PrepStain® (indicato come metodo PrepStain®);
- valutare gli aspetti inerenti alla morfologia e alla qualità dei SurePath® Slides allestiti avvalendosi del metodo manuale in confronto ai vetrini allestiti con il metodo approvato PrepStain®.

Altri obiettivi dello studio sono stati di:

- stabilire se il livello di concordanza tra il metodo PrepStain® approvato e il metodo PrepMate® era superiore a quanto si sarebbe potuto prevedere;
- stabilire se il livello di concordanza tra il metodo PrepStain® approvato e il metodo manuale era superiore di quanto si sarebbe potuto prevedere;
- valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema PrepStain® per l'allestimento dei SurePath® Slides avvalendosi del metodo PrepMate®;
- valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema PrepStain® per l'allestimento dei SurePath® Slides avvalendosi del metodo manuale.

PREPMATE® ACCESSORY

PrepMate® è un accessorio per il sistema PrepStain® che automatizza due fasi manuali del procedimento di laboratorio PrepStain®: la miscelazione e la stratificazione del campione. Il PrepMate® miscela e rimuove con cura il campione dalle SurePath® Preservative Vials e stratifica il campione sul PrepStain® Density Reagent in una provetta. Il rack dei campioni precaricato con le fiale di campioni, pipette di siringatura e provette (contenenti il Density fluid) viene posizionato sulla vaschetta dello strumento. Il rack contiene fino a dodici fiale, provette e pipette di siringatura, che sono sistemate su tre file per quattro ciascuna. Le fiale, le pipette di siringatura e le provette sono monouso e devono essere usate solo una volta in modo da eliminare la possibilità di contaminazione dei campioni.

METODO MANUALE

Il metodo manuale si avvale di una procedura manuale per stratificare la sospensione cellulare sui vetrini e colorare il preparato. Il prelievo e la processazione dei campioni

ginecologici sono identici per i metodi manuale e PrepStain® approvato fino al punto di utilizzo dello strumento PrepStain®.

Nel metodo PrepStain®, i precipitati di cellule centrifugate sono collocati direttamente sullo strumento PrepStain® per la processazione automatizzata in modo da produrre i SurePath® Slides colorati.

Nel metodo manuale, l'acqua deionizzata viene aggiunta al precipitato di cellule centrifugate, quindi viene mescolato su vortex per risospendere e randomizzare il campione. Il campione viene poi trasferito nella camera di decantazione fissata sul SurePath® PreCoat slide. Al termine della decantazione del campione sul vetrino, questo viene colorato mediante procedura di colorazione di Papanicolaou a lotti.

ORGANIZZAZIONE DEI VETRINI

La Tabella 17 presenta l'organizzazione dei vetrini dello studio clinico. È importante notare che per la serie di studi sono stati utilizzati tre vetrini per caso.

Tabella 17 Organizzazione dei vetrini

	Casi	Vetrini
Numero totale registrato per lo studio	471	1.413
Numero totale escluso dall'analisi	-68	-204
Documentazione incompleta	-39	-117
Vetrini allestiti erroneamente	-24	-72
Altri motivi di esclusione*	-5	-15
Numero complessivo incluso nell'analisi	403	1.209

* Campioni mancanti, numeri paziente duplici e così via.

DATI DEMOGRAFICI INERENTI ALLA POPOLAZIONE

La Tabella 18 elenca i dati demografici delle pazienti in funzione dell'età per tutti i casi inclusi nella popolazione oggetto dello studio.

Tabella 18 Dati demografici delle pazienti

Età	Numero di casi
19 o meno	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
N. totale	403

La Tabella 19 elenca le attuali informazioni cliniche e la Tabella 20 elenca la storia clinica per tutti i casi inclusi nella popolazione dello studio. Si noti che è stata consentita la scelta di più di una voce, quindi è possibile che il totale dei casi non corrisponda al numero complessivo di casi presenti nella popolazione dello studio.

Tabella 19 Attuali informazioni cliniche

Informazioni cliniche	Numero di casi
Ciclico	241
Ciclo irregolare	69
Isterectomia	16
Gravidanza	9
Post aborto	0
Post natale	9
Post menopausa	58
Perimenopausa	1
Immunodepressa	0
Presentazione ginecologica anomala	0
Perdite vaginali	137
Terapia di sostituzione con estrogeni	19
IUD (Dispositivo anticoncezionale)	2
Anticoncezionali per uso orale/Impianto	20
Nessun controllo delle nascite	181
Informazioni non disponibili	22

Tabella 20 Storia clinica

Storia	Numero di casi
Precedente citologia anomala	13
Storia di sanguinamento anomalo	36
Biopsia	3
Anamnesi di cancro	1
Chemioterapia	0
Radiazioni	0
Colposcopia	9
HIV/AIDS	0
HPV (Papillomavirus)	0
Herpes	1
Storia di BTL*	1
Storia di PID**	57
Nessuna nota	363

* Legatura delle tube

* Malattia infiammatoria pelvica

RISULTATI DELLO STUDIO

L'obiettivo di questo studio è stato di accertare se i SurePath® Slides allestiti mediante le procedure del metodo PrepMate® e del metodo manuale reggono il confronto con quelli preparati usando il metodo PrepStain® approvato. I dati clinici dimostrano che i vetrini preparati con i metodi PrepMate® e manuale sono equiparabili in termini di morfologia e qualità con quelli preparati con il metodo PrepStain® approvato.

Inoltre, i dati clinici dimostrano che il rendimento diagnostico è uguale per i metodi PrepMate® e manuale quando confrontati con il metodo PrepStain® approvato. Infine, l'adeguatezza dei vetrini preparati con i metodi PrepMate® e manuale non è diversa da quella rilevata per i vetrini preparati con il metodo PrepStain® approvato. Questi risultati avvalorano la comparabilità dei metodi PrepMate® e manuale con il metodo PrepStain® approvato.

MORFOLOGIA E QUALITÀ DEI CAMPIONI

La Tabella 21 presenta i risultati per gli obiettivi principali. L'accettabilità dei vetrini preparati con ciascun metodo è stata valutata in funzione dei criteri di morfologia e di qualità descritti nella tabella. Per ciascun criterio, si è calcolato il rapporto di vetrini accettabili unitamente all'esatto intervallo di confidenza del 95% corrispondente.

Tabella 21 Confronto delle percentuali e degli intervalli di confidenza (CI) per i criteri di accettabilità

Metodo di allestimento dei vetrini						
Criteri di accettabilità	PrepStain®		PrepMate®		Manual Method	
	Rapporto (n/N)	CI 95% esatto	Rapporto (n/N)	CI 95% esatto	Rapporto (n/N)	CI 95% esatto
	Colorazione	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403) 0,9748, 0,9973
	Chiarezza	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403) 0,9863 0,9999
	Nucleare	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403) 0,9863 0,9999
	Citologia	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	1,0000 (403/403) 0,9909 1,0000
	Cluster	0,9926 (400/403)	0,9784 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999	0,9603 (387/403) 0,9363 0,9771
Cellularità	0,9305 (375/403)	0,9011 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127 0,9615

I tassi di accettabilità dei metodi PrepMate® e manuale sono quasi sempre uguali o superiori a quelli rilevati con il metodo PrepStain®. Inoltre, gli intervalli esatti di confidenza del 95% per i metodi PrepMate® e manuale si sovrappongono in maniera consistente con quelli rilevati nel metodo PrepStain® approvato per ciascun criterio. Ciò comporta che i vetrini preparati con i metodi PrepMate® e manuale sono equiparabili in termini di morfologia e qualità con quelli preparati con il metodo PrepStain® approvato. Pertanto, la qualità dell'allestimento è la medesima per il metodo approvato e i due metodi analizzati.

CONCORDANZA DIAGNOSTICA

Questa analisi mette a confronto le diagnosi sui vetrini preparati con ciascun metodo. Poiché tali dati sono ottenuti dagli split-sample, le matrici di diagnosi presentate nelle Tabelle 22 e 23 si basano su coppie di campioni con ciascuno dei metodi di allestimento dei vetrini (PrepMate® e metodo manuale) confrontato con il metodo PrepStain® approvato. Preferibilmente, le diagnosi ottenute dai vetrini preparati con i due metodi saranno uguali. Ciò è rappresentato dal numero di vetrini con diagnosi identiche, che appaiono sulla diagonale principale di ciascuna tabella.

La prima misura di concordanza è la proporzione di vetrini sulla diagonale principale e gli esatti intervalli di confidenza del 95% corrispondenti. La seconda misura di concordanza

viene ottenuta dalla statistica kappa, che è stata calcolata per ciascun confronto e collaudata. Il test stabilisce se la quantità di concordanza tra i due metodi è superiore a quanto si sarebbe potuto prevedere. Poiché le osservazioni sono ordinate, è più importante avere osservazioni che rimangono sulla diagonale principale o nelle sue prossimità. La statistica kappa ponderata conferisce maggiore peso alle osservazioni che si trovano sulla diagonale principale delle tabelle o nelle prossimità.

CONFRONTO DEI METODI PREPSTAIN® APPROVATO E PREPMATE®

Nella Tabella 22, il numero di vetrini sulla diagonale principale è 367 (2+334+8+6+5+11+1) e la proporzione di vetrini sulla diagonale principale è 0,9107 (367/403) con limiti esatti di confidenza del 95% compresi tra 0,8785 e 0,9366.

In caso di esclusione di vetrini inadeguati dalla tabella con l'eliminazione della prima fila e della prima colonna, restano 379 vetrini. La proporzione di vetrini sulla diagonale principale è 0,9194 (365/397) con limiti di confidenza del 95% compresi tra 0,8881 e 0,9442.

I risultati presentati nella Tabella 22 indicano che il metodo PrepStain® approvato e il metodo PrepMate® hanno un'alta proporzione di vetrini con concordanza diagnostica, secondo quanto indicato dalla proporzione di vetrini sulla diagonale principale nella tabella. Inoltre, l'analisi kappa ponderata indica che la concordanza è notevolmente superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire accidentalmente.

Tabella 22 Tabulazione incrociata delle diagnosi con metodi PrepStain® e PrepMate®

Diagnosi con il metodo PrepStain®										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	N. totale
Diagnosi con metodo PrepMate®	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	15
	Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
N. totale		5	348	12	17	9	11	0	0	403

CONFRONTO DEI METODI PREPSTAIN® APPROVATO E MANUALE

Nella Tabella 23, il numero di vetrini sulla diagonale principale è 353 (3+315+6+10+7+11+1). La proporzione di vetrini sulla diagonale principale è 0,8759 (353/403). Gli esatti limiti di confidenza del 95% relativi al binomio per questa proporzione sono 0,8397-0,9065.

In caso di esclusione di vetrini inadeguati dalla tabella con l'eliminazione della prima fila e della prima colonna, restano 398 vetrini. La proporzione di vetrini sulla diagonale principale è 0,8794 (350/398) con limiti di confidenza del 95% compresi tra 0,8433 e 0,9097. I risultati presentati nella Tabella 23 indicano che il metodo PrepStain® approvato e il metodo manuale hanno un'alta proporzione di vetrini con concordanza diagnostica, secondo quanto indicato dalla proporzione di vetrini sulla diagonale principale nella tabella. Inoltre, l'analisi kappa ponderata indica che la concordanza è notevolmente superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire accidentalmente. Pertanto, il rendimento diagnostico è il medesimo per il metodo approvato e i due metodi analizzati.

Tabella 23 Tabulazione incrociata delle diagnosi con metodi PrepStain® e manuale

Diagnosi con il metodo PrepStain®										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	N. totale
Diagnosi con metodo manuale	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	25
	Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
N. totale		5	348	12	17	9	11	0	0	403

ADEGUATEZZA DEI VETRINI

L'adeguatezza dei vetrini è stata valutata per ciascuno dei metodi di allestimento. I dati sono stati analizzati usando il test McNemar in doppio cieco.¹⁸

La Tabella 24 presenta i risultati relativi all'adeguatezza in caso di confronto del metodo approvato PrepStain® e il metodo PrepMate®.

Tabella 24 Risultati relativi all'adeguatezza per i vetrini allestiti con metodi PrepMate® e PrepStain®

		Risultato ottenuto con il metodo PrepStain®		
Risultato ottenuto con metodo PrepMate	SAT o SBLB	SAT o SBLB	UNSAT	
		398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

La Tabella 25 presenta i risultati relativi all'adeguatezza in caso di confronto del metodo approvato PrepStain® e il metodo manuale.

Tabella 25 Risultati relativi all'adeguatezza per i vetrini allestiti con metodi manuale e PrepMate®

		Risultato ottenuto con il metodo PrepStain®		
Risultato del metodo manuale	SAT o SBLB	SAT o SBLB	UNSAT	
		398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

Questi due paragoni dimostrano che i metodi PrepMate® e manuale non sono diversi dal metodo PrepStain® approvato per quanto concerne l'adeguatezza dei vetrini.

STUDIO DIRECT-TO-VIAL

In seguito all'approvazione iniziale della FDA del sistema PrepStain®, la TriPath Imaging ha condotto un ampio studio in più centri sul sistema PrepStain® in caso d'uso corretto coi campioni direct-to-vial. I precedenti studi clinici utilizzavano il metodo split-sample secondo il quale il campione veniva usato prima per creare un vetrino con Pap smear convenzionale e il campione residuo veniva collocato nel fluido SurePath® e processato con il sistema PrepStain® per creare un SurePath® Slide. È apparso che gli studi split-sample stimano per difetto il vero rendimento del test preparato dal materiale cellulare residuo.

Questo studio ha confrontato il rendimento dei SurePath® Slides ottenuti con i campioni direct-to-vial prelevati con Pap smear convenzionali. I risultati ottenuti con SurePath® sono stati paragonati coi risultati ottenuti da una coorte storica di Pap smear convenzionali. In particolare, questo studio ha valutato se i SurePath® Slides miglioravano il rilevamento di lesioni squamose intraepiteliali di alto grado (HSIL), adenocarcinoma in situ e cancro (HSIL+). Tutti i dati disponibili delle biopsie sono stati prelevati per le popolazioni di vetrini.

La popolazione SurePath® era composta da 58.580 vetrini prelevati in modo prospettico da 57 cliniche che avevano convertito quasi il 100% del prelievo con Pap smear convenzionale in prelievo di campioni con SurePath®. I campioni prelevati presso queste cliniche sono stati inviati in tre siti clinici per la processazione.

La popolazione convenzionale era rappresentata da 58.988 vetrini provenienti dalle stesse cliniche dei SurePath® Slides. Questa popolazione storica è stata raccolta partendo dai vetrini più recenti prima che le cliniche passassero al sistema SurePath® e quindi ritornando nel tempo fino al raggiungimento approssimativo dello stesso numero per le popolazioni di vetrini prelevati con Pap smear convenzionale e con sistema SurePath® di ciascun sito clinico.

I risultati di questo studio hanno dimostrato una percentuale di rilevamento di 405/58.580 per i SurePath® Slides rispetto a 248/58.988 per i vetrini convenzionali, portando rispettivamente a percentuali di rilevamento di 0,691% e 0,420% (consultare la Tabella 26). Per questi particolari siti clinici e per tali popolazioni oggetto dello studio, i dati si traducono in un aumento del 64,4% (p<0,00001) di casi individuati di lesioni HSIL+ per i SurePath® Slides.

Tabella 26 Confronto di percentuali di rilevamento per sito**HSIL+**

Sito	Test convenz.			SurePath®		
	N. totale	HSIL+	Percentuale (%)	N. totale	HSIL+	Percentuale (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
N. totale	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

TP-2000

Sito	Test convenz.			SurePath®		
	N. totale	LSIL+	Percentuale (%)	N. totale	LSIL+	Percentuale (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
N. totale	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Sito	Test convenz.			SurePath®		
	N. totale	ASCUS+	Percentuale (%)	N. totale	ASCUS+	Percentuale (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2,612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
N. totale	58.988	2.062	3,496	58.580	3,586	6,122

Inadeguato

Sito	Test convenz.			SurePath®		
	N. totale	UNSAT+	Percentuale (%)	N. totale	UNSAT+	Percentuale (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
N. totale	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

***Nota:** sono previste variazioni da sito a sito in relazione alle prestazioni. Ogni laboratorio dovrà monitorare attentamente la qualità del proprio lavoro.*

PROCEDURA

Nel Manuale per l'operatore del sistema PrepStain® sono fornite le procedure complete per l'allestimento dei SurePath® Slides.

BIBLIOGRAFIA

- Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
- Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23
- Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
- Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
- Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
- Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
- McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
- Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
- Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
- Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
- Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
- Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
- McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
- Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
- College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
- Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
- Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
- Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
- Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

DENOMINAZIONE E SEDE DELL'ATTIVITÀ

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215. USA
Informazioni PrepStain®: 1-800-426-2176 o 336-222-9707
Fax: 336-222-8819.
Numeri di brevetto statunitense: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Numeri di brevetto canadese: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Numeri di brevetto giapponese: 2837076, 2781513.
Numeri di brevetto europeo: 0590504, 0590447, 0590506B.
Altri brevetti statunitensi e stranieri in corso di registrazione.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

BEOOGD GEBRUIK

Het PrepStain®-systeem (vroeger het AutoCyte® PREP-systeem) is een op vloeistof gebaseerde methode voor het vervaardigen van dunne-laagpreparaten. Het PrepStain®-systeem produceert SurePath®-glaasjes die bedoeld zijn als vervanging voor conventionele gynaecologische Pap-smears. SurePath®-glaasjes (vroeger AutoCyte® PREP-glaasjes) zijn bedoeld voor toepassing bij screening en detectie van baarmoederhalskanker, premaligne laesies, atypische cellen en alle andere cytologische categorieën zoals gedefinieerd in het *Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses*.^{1, 19}

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE PROCEDURE

Het PrepStain®-systeem zet een vloeibare suspensie van cervixcellen om in een afzonderlijk gekleurde, homogene dunne laag cellen terwijl diagnostische celclusters intact blijven.²⁻⁹ De procedure bestaat o.a. uit celconservering, randomisering, verrijking van diagnostisch materiaal, pipetteren, sedimentatie, kleuring en afdekken voor het maken van een SurePath®-glaasje voor toepassing bij routinematige cytologische screening en classificering zoals gedefinieerd door het *Bethesda System*.¹ Het SurePath®-glaasje presenteert een goed geconserveerde populatie van gekleurde cellen binnen een cirkel met een diameter van 13 mm. Uitdrogingsartefacten en overschaduwend, overlappend celmateriaal en débris worden grotendeels geëlimineerd. Het aantal witte bloedcellen wordt aanzienlijk gereduceerd, wat visualisering van epitheelcellen, diagnostisch relevante cellen en infectieuze organismen vergemakkelijkt.

De SurePath®-procedure begint met afname door daartoe bevoegd medisch personeel van een gynaecologisch monster met een borstelachtig afname-instrument (bijv. Cervex Brush®, Rovers Medical Devices B.V., Oss - Nederland) of een gecombineerde endocervicale borstel / plastic spatel (bv. een Cytobrush® Plus GT- en Pap Perfect® spatel, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) met losmaakbare kop(pen). In plaats van de met de instrumenten afgenomen cellen op een objectglaasje uit te strijken, komen de koppen van de afname-instrumenten los van de steel en worden deze in een monsterpotje met SurePath® *Preservative Fluid* gedeponeerd. Het monsterpotje wordt met een dop afgesloten, gelabeld en samen met de benodigde formulieren voor verwerking naar het laboratorium gezonden. De koppen van de afname-instrumenten blijven altijd in het monsterpotje met conserveringsmiddel.

In het laboratorium wordt het geconserveerde monster gemengd op een vortex-mixer en vervolgens overgebracht op PrepStain® *Density Reagent*. Niet-diagnostisch materiaal en overmaat ontstekingscellen worden gedeeltelijk uit het monster verwijderd door een verrijkingstap die bestaat uit sedimentatie door centrifugatie door Density Reagent. Na centrifugatie worden de celpelleten geresuspendeerd, gemengd en overgebracht naar een PrepStain® *Settling Chamber* die is aangebracht op een SurePath® *PreCoat*-objectglaasje. De cellen sedimenteren o.i.v. zwaartekracht en worden vervolgens gekleurd met behulp van een gemodificeerde Papanicolaou kleuringprocedure: Het glaasje wordt met xyleen of een xyleen vervangende vloeistof opgehelderd en afgedekt met een dekglasje. De cellen, gepresenteerd in een cirkel met een diameter van 13 mm, worden onder een microscoop onderzocht door daarvoor opgeleide cytodiagnostische medewerkers en pathologen die toegang hebben tot andere relevante achtergrondinformatie van de patiënte.

BEPERKINGEN

- Gynaecologisch materiaal voor preparaties met behulp van het PrepStain®-systeem moet worden afgenomen met een borstelachtig instrument of met een gecombineerde endocervicale borstel / plastic spatel met losmaakbare kop(pen) overeenkomstig de door de fabrikant bijgeleverde standaard afnameprocedure. Gebruik geen houten spatels met het PrepStain®-systeem. Gebruik evenmin gecombineerde endocervicale borstels / plastic spatels waarvan de koppen niet losmaakbaar zijn.
- Opleiding door bevoegde personen is een noodzakelijke voorwaarde voor de vervaardiging en beoordeling van SurePath®-glaasjes. Cytodiagnostische medewerkers en pathologen zullen worden opgeleid in de morfologische beoordeling van de SurePath®-glaasjes. De opleiding zal o.a. een vaardigheidstoets omvatten. Voor klanten van het laboratorium zullen instructieglaasjes en testsets beschikbaar zijn. TriPath Imaging®, Inc. zal ook assisteren bij het vervaardigen van objectglaasjes met oefenmateriaal van de eigen patiëntengroep van elke klant.
- Voor een juiste prestatie van het PrepStain®-systeem mogen uitsluitend materialen worden gebruikt die door TriPath Imaging worden ondersteund of door TriPath Imaging worden aanbevolen voor toepassing met het PrepStain®-systeem. Gebruikte materialen dienen overeenkomstig de regels van de instelling en overheidsvoorschriften op correcte wijze te worden afgevoerd.
- Alle bijgeleverde materialen zijn uitsluitend bestemd voor eenmalig gebruik en kunnen niet worden hergebruikt.

Reagentia



Voor in-vitro diagnostiek. Alleen voor laboratoriumgebruik.

Waarschuwingen



SurePath® *Preservative Fluid* bevat een verdunde oplossing van gedenateerde ethanol. Het mengsel bevat kleine hoeveelheden methanol en isopropanol. Niet doorslikken.

PrepStain® *Density Reagent* bevat Natrium azide. Niet doorslikken. Natrium azide kan met loden of koperen buizen reageren en daarmee een hoog explosief metaal azide te vormen. Bij weggooien met grote hoeveelheden water naspelen om azide vorming te voorkomen. Voor meer informatie: refereer naar publicatie DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, uitgebracht door the Centers for Disease Control. Zie de Website: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG gecombineerde cytologische kleuring bevat alcohol. Is giftig bij doorslikken. Dampen niet inhaleren. Alleen bij voldoende ventilatie gebruiken. Vermijd contact met de huid en de ogen. Hoogst brandbaar.

VOORZORGSMAATREGELEN

- Men dient een goede laboratoriumpraktijk na te leven en zich strict aan alle procedures voor gebruik van het PrepStain®-systeem te houden.
- Reagentia moeten worden bewaard bij kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) en gebruikt vóór de vervaldatum om zeker te zijn van goede resultaten. SurePath® *Preservative Fluid* zonder cytologische monsters kan maximaal 36 maanden vanaf de productiedatum bij kamertemperatuur (15° tot 30° C) worden bewaard. De maximale bewaartermijn voor SurePath® *Preservative Fluid* met cytologische monsters is 6 maanden bij lage temperatuur (2 °C tot 10 °C) of 4 weken bij kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C).
- Voorkom spatten of vernevelen. Bij het uitvoeren van de procedures dienen handen, ogen en kleding afdoende te worden beschermd.
- SurePath® *Preservative Fluid* werd onderzocht op anti-bacteriële effectiviteit tegen: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* en *Aspergillus niger* en bleek effectief te zijn. SurePath® *Preservative*-monsters die waren geïnoculeerd met 10⁶ CFU/ml van elke soort gaven na 14 dagen incubatie onder standaard omstandigheden (28 dagen bij *Mycobacterium tuberculosis*) geen groei te zien. Algemene voorzorgsmaatregelen voor het veilig omgaan met biologische vloeistoffen dienen echter altijd in acht te worden genomen.
- Het niet volgen van de aanbevolen procedures zoals aangegeven in de gebruikershandleiding van het PrepStain®-systeem kan de resultaten nadelig beïnvloeden.

BENODIGDE MATERIALEN

Raadpleeg de gebruikershandleiding van het PrepStain® systeem voor volledige informatie over reagentia, onderdelen en accessoires. Niet alle hieronder vermelde materialen zijn vereist voor het handmatig prepareren van SurePath®-glaasjes (zonder gebruik van het PrepStain® instrument).

Bijgeleverde materialen

- PrepStain® *Instrument*
- SurePath® *Preservative Fluid Collection Vial* (inclusief SurePath® *Preservative Fluid*)
- Cervica(a)l(e) afname-appara(a)t(en) met losmaakbare kop(pen)
- PrepStain® *Density Reagent*
- PrepStain® *Syringing Pipettes*
- PrepStain® *Settling Chambers*
- Cytology Stain Kit*
- SurePath® *PreCoat*-objectglaasjes
- Centrifuge Tubes*
- Slide and Tube Racks*
- Disposable Transfer and Aspirator Tips*

Benodigde, maar niet bijgeleverde materialen

- Vortex-mixer*
- Gedemineraliseerd water (pH 7,5 tot 8,5)
- Isopropanol en alcohol 96%
- Xyleen of xyleen substituuat, mounting media en glazen dekglasjes

Opslag

SurePath® *Preservative Fluid* zonder cytologische monsters kan tot 36 maanden vanaf de productiedatum bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C) worden bewaard.

De maximale bewaartermijn voor SurePath® *Preservative Fluid* met cytologische monsters is 6 maanden bij lagere temperaturen (2 tot 10 °C) of 4 weken bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C).

DIAGNOSTISCHE INTERPRETATIE EN GESCHIKTHEID VAN HET PREPARAAT

Na een door TriPath Imaging goedgekeurde gebruikerstraining voor het PrepStain®-systeem en SurePath®-glaasjes gelden voor SurePath® glaasjes dezelfde cytologische diagnostische criteria volgens het *Bethesda System* als die welke momenteel in cytologische laboratoria voor conventionele Pap-smears worden gehanteerd.¹ In het *Bethesda 2001 Reporting System* worden nieuwe richtlijnen aanbevolen voor vloeibare preparaten en wordt vastgelegd hoe u specifiek voor deze preparaten een adequate cellenrijkdom kunt bepalen.

Bij ontbreken van abnormale cellen wordt een preparaat als ontoereikend beschouwd als sprake is van één of meer van de volgende omstandigheden:

(1) Onvoldoende aantal diagnostische cellen (minder dan 5.000 squameuze epitheelcellen per preparaat). Hieronder volgen de aanbevolen procedures voor het schatten van het aantal goedgeconserveerde plaveiselepitheelcellen op SurePath®-glaasjes:

- Neem voor elk bij de screening gebruikte model microscoop de handleiding van de microscoopfabrikant door of neem contact op met de microscoopfabrikant om te bepalen hoe groot het gezichtsveld is bij gebruik van het gewenste oculair en het 40x-objectief. Het oppervlakte van het gezichtsveld kan ook worden berekend met behulp van een hemocytometer of soortgelijke maatweergave voor microscopische objectglaasjes (oppervlakte gezichtsveld = πr^2 waarbij r de straal van het gezichtsveld is).
- Het minimaal gemiddeld aantal cellen per veld met een 40x-objectief moet worden bepaald door 130 mm² (bij benadering het gebied van het SurePath®-glaasje waar cellen worden afgezet) te delen door het gezichtsveldoppervlak voor de specifieke microscoop. Het zo berekende aantal wordt dan verdeeld in een minimum van 5000 cellen. Het resulterende aantal is het aanbevolen minimale gemiddeld voldoende aantal voor epitheelcellen in een gezichtsveld van een 40x-objectief. Noteer dit aantal en bewaar het als routinegegevens voor de cytodiagnostische medewerker. In de Bethesda 2001-richtlijnen wordt bij benadering het aantal cellen per veld voor een preparaat van 13 mm aangegeven.
- Er moeten horizontaal of verticaal langs de middenlijn van het preparaat ten minste tien velden worden geteld.
- Als praktisch middel voor het bepalen van de celrijckdom kan de visuele dichtheid van het gekleurde preparaat macroscopisch worden beoordeeld om te controleren of de preparaatproductie-runs voldoen. Niets kan echter de primaire microscopische beoordeling door de cytodiagnostische medewerker tijdens het screeningsproces vervangen.

(2) 75% of meer van de celcomponenten wordt overschaduwed door ontstekingsmateriaal, bloed, bloeden, slijm of artefacten die cytologische interpretatie van het glaasje uitsluiten.

Alle abnormale of twijfelachtige screeningobservaties moeten voor controle en diagnose naar een patholoog worden doorverwezen. De patholoog dient alle diagnostisch belangrijke morfologische celwijzigingen te constateren.

PRESTATIEKENMERKEN: VERSLAG VAN KLINISCHE ONDERZOEKEN
EERSTE ONDERZOEK MET GESPLITSTE MONSTERS ('SPLIT SAMPLE')

TriPath Imaging heeft een prospectief, geblindeerd, klinisch onderzoek met gesplitste monsters ('split-sample'-opzet) in overeenkomende paren uitgevoerd op verschillende locaties om de diagnostische resultaten van SurePath®-glaasjes vervaardigd met het PrepStain®-systeem te vergelijken met conventioneel geprepareerde Pap-smears. Het doel van het onderzoek was beoordeling van de resultaten met SurePath® in vergelijking met de conventionele Pap-smear voor detectie van baarmoederhalskanker, premaligne laesies en atypische cellen bij verschillende patiëntengroepen en onder diverse laboratoriumomstandigheden. Voor beide preparaten werd ook de geschiktheid bepaald.

Volgens de aanbevelingen van het FDA-document "Points to Consider for Cervical Cytological Devices"¹⁰ werd eerst een conventionele Pap-smear geprepareerd en vervolgens werd het resterende materiaal op het borstelachtige afname-instrument in een SurePath® Preservative Fluid monsterpotje gedeponeerd.

Na vervoer naar het laboratorium werd elke geconserveerde celsuspensie verwerkt overeenkomstig het protocol voor het PrepStain®-systeem. Het aldus vervaardigde SurePath®-glaasje en het glaasje met de corresponderende conventionele Pap-smear werden handmatig gescreend en apart gediagnosticeerd aan de hand van diagnostische categorieën die overeenkwamen met het Bethesda System. Op elke locatie evalueerde een patholoog alle afwijkende glaasjes.

Overeenkomstig de door Shatzkin beschreven methode¹¹ beoordeelde in dit onderzoek een zelfstandige referentiepatholoog op een aangewezen referentielocatie geblindeerd alle abnormale en tegenstrijdige gevallen, gevallen met herstel en 5% van de normale gevallen van alle locaties om voor elk geval de diagnostische "waarheid" te verschaffen.

PATIËNTENKENMERKEN

De leeftijd van de vrouwen in het onderzoek varieerde van 16 tot 87 jaar, van wie 772 postmenopauzaal. Van de 8.807 in het onderzoek vertegenwoordigde patiënten hadden 1.059 een historie van eerdere abnormale Pap-smears. De gehele onderzochte patiëntenpopulatie bestond uit de volgende raciale groepen: blank (44%), zwart (30%), Aziatisch (12%), Latino (10%), indiaans (3%) en overige (1%).

Monsters voorzien van onjuist ingevulde papieren, patiënten jonger dan 16 jaar, patiënten die een hysterectomie hadden ondergaan en cytologisch ongeschikt en inadequaat materiaal werden uitgesloten. Er werd getracht zoveel mogelijk gevallen van baarmoederhalskanker en premaligne ziekte op te nemen door 'high-risk', weinig gescreende en doorverwezen patiënten toe te laten.

De in totaal 10.335 gevallen werden verdeeld over acht verschillende onderzoeklocaties waarvan 9.046 patiëntes geaccepteerd en beoordeeld werden. Van deze 9.046 gevallen voldeden 8.807 aan de eisen van het Bethesda System voor geschiktheid van het preparaat en waren beschikbaar voor volledige diagnose van beide preparaten.

ONDERZOEKSRESULTATEN

De doelstelling van het klinische onderzoek was de resultaten van de met het PrepStain®-systeem vervaardigde SurePath®-glaasjes te vergelijken met op conventionele wijze geprepareerde Pap-smears. De glaasjes voor beide preparatiemethoden werden geclassificeerd volgens de criteria van het Bethesda System. Het onderzoeksprotocol was bevooroordeeld ten gunste van de conventionele Pap-smear omdat een conventionele Pap-smear altijd eerst werd vervaardigd, zodat het SurePath®-glaasje slechts het resterende materiaal op het borstelachtige instrument bevatte (het gedeelte van het

monster dat normaliter zou zijn weggegooid).¹² Het beoogde gebruik van de SurePath®-test is een "direct-to-vial" toepassing waarbij alle verzamelde cellen beschikbaar zijn voor het PrepStain®-systeem

Om de sensitiviteit van de SurePath®-glaasjes en de conventionele Pap-smears te vergelijken als deze handmatig worden afgelezen, werd het aantal afwijkingen voor deze gevallen bepaald door de referentiepatholoog en vergeleken met de op de onderzoeklocatie gestelde diagnose. De referentiediagnose werd gebaseerd op de meest afwijkende diagnose van de twee preparaatglaasjes door de onafhankelijke referentiepatholoog. Dit resultaat werd gebruikt als de "ware" diagnose of referentiewaarde voor de vergelijking van de resultaten per locatie van PrepStain®-systeempreparatie van SurePath®-glaasjes ten opzichte van conventionele Pap-smears. De nulhypothese dat de sensitiviteit van de twee preparatiemethoden gelijkwaardig is, werd onderzocht met de McNemar chi-kwadraattoets voor gepaarde gegevens.¹³ In deze statistische toets werden de tegenstrijdige resultaten voor de twee preparatiemethoden vergeleken.

Tabel 1 presenteert een directe vergelijking van de resultaten van alle locaties voor SurePath®-glaasjes versus conventionele glaasjes voor de diagnostische behandelingscategorieën WNL (within normal limits= binnen normale grenzen), ASCUS/AGUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance = Atypische plaveiselcellen van onbepaalde significantie/atypische glandulaire cellen van onbepaalde significantie), LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion = laaggradige intraepitheliale laesie), HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion= hooggradige intraepitheliale laesie), en CA (Cancer = carcinoom).

Tabel 1 Eerste 'split-sample'-onderzoek: 8.807 corresponderende monsters — Vergelijking resultaten per locatie — geen referentiepatholoog

Resultaten per locatie								
Locatie nr.	Type glaasje	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totaal
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
Totaal	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®
CN = Conventioneel

Tabel 2 presenteert een directe vergelijking van de resultaten van alle locaties voor de SurePath® preparatiemethode vs. de conventionele Pap-smear voor alle diagnostische behandelingscategorieën.

Tabel 2 Eerste 'split-sample'-onderzoek: 8.807 corresponderende monsters — Vergelijking resultaten van alle locaties — geen referentiepatholoog

Op conventionele wijze geprepareerde Pap-smear								
	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totaal	
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	WNL	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Totaal	7.768	531	39	271	177	21	8.807

In tabel 1 of tabel 2 zijn geen resultaten van de onafhankelijke referentiepatholoog weergegeven.

Tabel 3 Eerste 'split-sample'-onderzoek: Vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die door de referentiemethode zijn aangemerkt als ASCUS/AGUS — niet-overeenkomende foutanalyse

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	113	205	318
		180	229	409
		293	434	727

Succes = ASCUS/AGUS
Fout = WNL & reactief/regeneratief

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 1,62$; $p = 0,2026$
Fouten conventioneel: 205
Fouten SurePath®: 180

Tabel 3 toont de resultaten voor gevallen die door de referentiepatheroloog als ASCUS of AGUS werden aangemerkt. Met deze evaluatie wordt analyse van de niet-overeenkomende fouten mogelijk zodat de sensitiviteit van de methoden in het 'split-sample'-onderzoek bepaald kan worden. Fout = WNL en reactief/regeneratief. Aangezien de door de McNemar-toets bepaalde p-waarde hoger is dan 0,05, waren de resultaten met SurePath® en conventionele Pap-smears gelijkwaardig.

Tabel 4 Eerste 'split-sample'-onderzoek: Vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die door de referentiemethode werden aangemerkt als LSIL — niet-overeenkomende foutanalyse

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	140	63	203
		54	86	140
		194	149	343

Succes = LSIL
Fout = WNL, reactief/regeneratief & ASCUS/AGUS

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 0,69$; $p = 0,4054$
Fouten conventioneel: 63
Fouten SurePath®: 54

Tabel 4 toont de resultaten voor gevallen die door de referentiepatheroloog als LSIL aangemerkt werden. Fout = WNL, reactief/regeneratief en ASCUS/AGUS. Net als bij ASCUS/AGUS was de sensitiviteit van beide methoden in het 'split-sample'-onderzoek statistisch gelijk aan een p-waarde hoger dan 0,05.

Tabel 5 Eerste 'split-sample'-onderzoek: Vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die door de referentiemethode werden aangemerkt als HSIL+ — niet-overeenkomende foutanalyse (LSIL is niet fout)

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	160	28	188
		36	38	74
		196	66	262

Succes = HSIL+
Fout = WNL, reactief/regeneratief & ASCUS/AGUS

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 1,00$; $p = 0,3173$
Fouten conventioneel: 28
Fouten SurePath®: 36

Tabel 5 toont de resultaten voor gevallen die door de referentiepatheroloog werden aangemerkt als HSIL+. In deze vergelijking werd LSIL niet als een fout beschouwd, maar meer als een tegenstrijdigheid.^{10,14,15} Fout = WNL, reactief/regeneratief en ASCUS/AGUS. De sensitiviteitsanalyse van de niet-overeenkomende fouten toonde statistische gelijkwaardigheid van de methoden aan in het 'split-sample'-onderzoek.

Tabel 6 Eerste 'split-sample'-onderzoek: niet-overeenkomende foutanalyse voor gevallen van carcinoom (HSIL is niet fout; LSIL wordt als fout beschouwd)

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	19	2	21
		5	1	6
		24	3	27

Succes = carcinoom
Fout = WNL, reactief/regeneratief ASCUS/AGUS en LSIL

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 1,645$; $p = 0,1980$
Fouten conventioneel: 2
Fouten SurePath®: 5

Tabel 6 toont de resultaten (alle vestigingen) voor gevallen die door de referentiemethode als carcinoom werden aangemerkt. Fout = WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. De sensitiviteitsanalyse van de niet-overeenkomende fouten toonde statistische

gelijkwaardigheid van de methoden aan. Deze 27 gevallen van carcinoom werden in de herbeoordeling opgenomen. Deze gegevens vindt u in tabel 9.

Tabel 7 Eerste 'split-sample'-onderzoek: Vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die door de referentiemethode werden aangemerkt als HSIL+ — niet-overeenkomende foutanalyse (LSIL werd in deze analyse als fout beschouwd)

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	94	33	127
		67	68	135
		161	101	262

Succes = (HSIL+)
Fout = WNL, reactief/regeneratief ASCUS/AGUS en LSIL

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 11,56$; $p = 0,0007$
Fouten conventioneel: 33
Fouten SurePath®: 67

Tabel 7 toont de resultaten voor gevallen die door de referentiepatheroloog werden aangemerkt als HSIL+. Fout = WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. Hoewel niet consistent met het originele onderzoeksprotocol¹⁰ werd een statistische vergelijking van methoden uitgevoerd waar LSIL als diagnostische fout werd beschouwd in een geval dat door de enige onafhankelijke referentiepatheroloog als HSIL+ werd aangemerkt. In deze statistische vergelijking van diagnostische sensitiviteit, wanneer LSIL als fout wordt beschouwd in tegenstelling tot een geringe afwijking, zouden de SurePath®-glaasjes die door het PrepStain®-systeem geprepareerd zijn voor detectie van HSIL+-afwijking in het 'split-sample'-onderzoek niet gelijkwaardig zijn aan de op conventionele wijze geprepareerde Pap-smear.

GEBLINDEERDE HERBEOORDELING VAN GEVALLEN VAN HSIL+

Er werd een nieuwe evaluatie uitgevoerd om te bepalen of de resultaten werden beïnvloed door de kwaliteit van het preparaat of door subjectiviteit bij de interpretatie. Om de 262 gevallen te beoordelen die in het oorspronkelijke onderzoek als HSIL+ werden gediagnosticeerd (tabel 7), werd een extra evaluatie uitgevoerd na implementatie van een nieuw trainingsprogramma voor cytodiagnostische medewerkers waarin de nadruk werd gelegd op consistente interpretatie tussen de diagnostische groepen van het Bethesda System. Deze gevallen van HSIL+ werden opnieuw geblindeerd als onderdeel van een herbeoordeling die bestond uit totaal 2.438 monsters die werden geprepareerd met behulp van hetzelfde 'split-sample'-protocol. De resultaten per onderzoekslocatie voor beide preparaten werden vervolgens vergeleken met een nieuwe referentiewaarde waarover ten minste twee van de drie onafhankelijke referentiepatherologen het eens moesten zijn wat betreft de meest afwijkende cytologische diagnose.

In de referentieprocedure voor de herbeoordeling werden beide preparaten van de niet-overeenkomende gevallen (met PrepStain® geprepareerde SurePath®-glaasjes en op conventionele wijze geprepareerde glaasjes) opnieuw microscopisch beoordeeld door een tweede cytodiagnostische medewerker en de nieuw-vastgestelde afwijkingen werden toegevoegd aan die van de eerste screening. Drie referentiecypatherologen evalueerden vervolgens alle niet-overeenkomende gevallen aan de hand van een geblindeerd protocol. Deze uitgebreide referentiemethode reduceerde het aantal referentiegevallen van HSIL+ van 262 in het oorspronkelijk onderzoek tot 209 in de herbeoordeling. Het verschil van 53 gevallen kan als volgt worden verklaard: 48 gevallen werden door de uitgebreide referentiemethode gediagnosticeerd als LSIL of minder ernstig; de geschiktheid van 3 gevallen werd bij herbeoordeling als ontoereikend beoordeeld; de resterende 2 gevallen waren niet beschikbaar voor beoordeling in het onderzoek met geblindeerde herbeoordeling.

Tabel 8 Onderzoek met herbeoordeling: herbeoordeling van niet-overeenkomende foutanalyse voor 209 oorspronkelijke gevallen van HSIL+ aan de hand van de stringenter referentiecriteriën door drie onafhankelijke referentiepatherologen

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	Succes	Fout	
	Fout	153	26	179
		24	6	30
		177	32	209

Succes = (HSIL+)
Fout = WNL, reactief/regeneratief ASCUS/AGUS en LSIL

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 0,02$; $p = 0,8875$
Fouten conventioneel: 26
Fouten SurePath®: 24

Tabel 8 toont de resultaten voor gevallen die door de referentiepatheroloog werden aangemerkt als HSIL+. Fout = WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. In deze vergelijking werd LSIL als diagnostische fout beschouwd in een geval dat door de onafhankelijke referentiepatheroloog als HSIL+ werd aangemerkt. Vergelijking van diagnostische sensitiviteit toonde statistische gelijkwaardigheid van de twee methoden aan.

Tabel 9 Onderzoek met herbeoordeling: niet-overeenkomende foutanalyse voor gevallen van carcinoom (HSIL is niet fout; LSIL wordt als fout beschouwd)

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
		Succes	Fout	
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	32	3	35
	Fout	3	0	3
		35	3	38

Succes = carcinoom

Fout = WNL, reactief/regeneratief ASCUS/AGUS en LSIL

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$

Fouten conventioneel: 3

Fouten SurePath®: 3

Tabel 9 toont de resultaten voor gevallen die door de nieuwe referentiemethode (alle locaties) als carcinoom werden aangemerkt. Fout = WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. Eén fout was het gevolg van een interpretatie als LSIL. Alle andere fouten betroffen interpretatie van glaasjes als ASCUS/AGUS of WNL. De sensitiviteitsanalyse van de niet-overeenkomende fouten toonde statistische gelijkwaardigheid van de methoden aan.

De geblindeerde herbeoordeling omvatte 2097 nieuwe gevallen die werden gebruikt voor herblinding van de oorspronkelijke HSIL+-monsters. Zie tabel 10 voor de analyse en vergelijking van de preparaten van deze nieuwe gevallen.

Tabel 10 Onderzoek met herbeoordeling: 2097 directe vergelijkingen van resultaten per locatie — geen referentie-patholoog

		Op conventionele wijze geprepareerde Pap-smear						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totaal
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	WNL	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Totaal	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Van de 2097 hierboven beschreven nieuwe gevallen werden 77 door de referentiepatholoog als HSIL+ gediagnosticeerd. Tabel 11 presenteert de sensitiviteitsanalyse voor deze 77 HSIL+ gevallen.

Tabel 11 Onderzoek met herbeoordeling: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die door de referentiemethode werden aangemerkt als HSIL+ — niet-overeenkomende foutanalyse (LSIL werd in deze analyse als fout beschouwd)

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
		Succes	Fout	
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	Succes	25	21	46
	Fout	21	10	31
		46	31	77

Succes = (HSIL+)

Fout = WNL, reactief/regeneratief ASCUS/AGUS en LSIL

Resultaat van McNemar-toets: $X^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$

Fouten conventioneel: 21

Fouten SurePath®: 21

Analyse van de niet-overeenkomende fouten in tabel 11 toonde een gelijk aantal missers van HSIL+ voor beide preparatiemethoden aan. Fout = WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. De statistische test toonde de gelijkwaardigheid van de twee methoden in de 'split-sample'-opzet aan, ook als LSIL als fout wordt beschouwd tegen een referentiewaarde van HSIL+.

Tabel 12 geeft een samenvatting van de beschrijvende diagnose van goedaardige bevindingen voor alle locaties.

Tabel 12 Eerste 'split-sample'-onderzoek: samenvatting van goedaardige cellulaire veranderingen

Beschrijvende diagnose (aantal patiënten: 8.807)	Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje	
	N	%	N	%
Goedaardige cellulaire veranderingen				
* Infectie:				
<i>Candida</i> -soorten	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> soorten	6	0,1	2	<0,1
Bacteriën (andere)	52	0,6	191	2,2
**reactieve veranderingen/regeneratieve veranderingen	424	4,8	319	3,6

* Bij de hierboven vermelde categorie 'infectie' zijn waarnemingen van infectieuze organismen gemeld. Per geval kan meer dan één klasse organismen vertegenwoordigd zijn.

** Reactieve regeneratieve veranderingen betroffen reactieve veranderingen in relatie tot ontsteking, atrofische vaginitis, bestraling en gebruik van een spiraalje, evenals standaardherstel waarbij plaveiselepitheelcellen, metaplastische plaveiselepitheelcellen of cilinderepitheelcellen betrokken waren.

In totaal werden 8.807 gevallen niet als "ontoereikend" beoordeeld door de onderzoeklocaties of de referentielocatie. Nog eens 239 monsters werden voor één van of beide preparaten als "ontoereikend" beoordeeld door één van of beide onderzoeklocaties of referentielocatie. Van de 239 ontoereikende gevallen werden 151 uitsluitend opgemerkt op conventionele glaasjes, 70 uitsluitend op SurePath® en 18 werden waargenomen op zowel de conventionele als de SurePath®-glaasjes. Alle ontoereikende gevallen werden uitgesloten van diagnostische vergelijking aan de hand van de categorieën van het Bethesda System, maar werden weer toegevoegd voor vergelijking van geschiktheid van het preparaat.

Tabel 13 t/m 16 geven de resultaten voor de geschiktheid van het preparaat weer voor alle locaties.

Tabel 13 Eerste 'split-sample'-onderzoek: resultaten van beoordeling van geschiktheid van het preparaat

Geschiktheid van het preparaat (aantal patiënten: 9.046)	Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje	
	N	%	N	%
Toereikend	7.607	84,1	6.468	71,5
Toereikend maar beperkt door:	1.385	15,3	2.489	27,5
ontbreken van endocervicale component	1.283	14,2	1.118	12,4
uitdrogingsartefact	0	0	17	0,2
dikke uitstrijk	1	< 0,1	0	0
overschaduwing door bloed	53	0,6	121	1,3
overschaduwing door ontsteking	102	1,1	310	3,4
weinig plaveiselepitheelcellen	4	< 0,1	7	0,1
cytolyse	10	0,1	11	0,1
geen klinische voorgeschiedenis	0	0	0	0
niet gespecificeerd	60	0,7	1.018	11,3
Ontoereikend voor beoordeling:	54	0,6	89	1,0
ontbreken van endocervicale component	42	0,5	42	0,5
uitdrogingsartefact	0	0	0	0
dikke uitstrijk	0	0	2	< 0,1
overschaduwend bloed	7	0,1	6	0,1
overschaduwende ontsteking	6	0,1	6	0,1
weinig plaveiselepitheelcellen	6	0,1	0	0
cytolyse	0	0	1	< 0,1
geen klinische voorgeschiedenis	0	0	0	0
niet gespecificeerd	37	0,4	32	0,5

Opmerking: sommige patiënten hadden meer dan één subcategorie.

Door de referentiefpatholoog werden extra ontoereikende gevallen vastgesteld en het totale aantal van ontoereikende resultaten zijn weergegeven in tabel 15. In de tabel zijn de volgende afkortingen gebruikt SAT = toereikend, SBLB = toereikend maar beperkt door (een gespecificeerde aandoening) en UNSAT = ontoereikend.

Tabel 14 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: samenvatting van resultaten voor beoordeling van geschiktheid van het preparaat voor alle klinische onderzoeklocaties

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2489	89	9.046

UNSAT: Resultaat van McNemar-toets χ^2 mc = 9,33; p = 0,0023
SBLB: Resultaat van McNemar-toets χ^2 mc = 546,21; p = 0,0000

Tabel 14 toont resultaten van een vergelijking van geschiktheid van het preparaat voor beide preparatiemethoden. Er waren aanzienlijk minder ontoereikende en SBLB-gevallen met de SurePath®-glaasjes dan met de conventionele glaasjes.

Tabel 15 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: vergelijking van ontoereikende resultaten uit de klinisch-onderzoeklocaties en de referentielocatie

		Op conventionele wijze geprepareerd glaasje		
		SAT	UNSAT	
Met PrepStain® geprepareerde SurePath® Slide	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Resultaat van McNemar-toets χ^2 mc = 29,69; p = 0,0000

Tabel 15 toont de vergelijking van toereikende en ontoereikende preparaten uit de beoordelingen op zowel de onderzoeklocaties als de referentielocatie. SurePath®-glaasjes tonen een statistisch significante afname van ontoereikende gevallen vergeleken met conventionele glaasjes.

Tabel 16 Resultaten voor beoordeling van geschiktheid van het preparaat per locatie—SBLB aantallen voor ontbreken van ECC (Endocervical Component = endocervicale component)

Locatie	Gevallen	SurePath® SBLB geen ECC's N (%)	Conventionele SBLB geen ECC's N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Alle locaties	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

De detectie van endocervicale cellen (tabel 16) varieerde op verschillende onderzoeklocaties. Over het algemeen was er een verschil van 1,8% in de detectie van endocervicale cellen tussen de conventionele Pap-smear en SurePath®-methode, hetgeen overeenkomt met eerdere studies waarbij de ‘split-sample’-methode werd toegepast.^{16,17}

SurePath®-glaasjes vervaardigd door het PrepStain®-systeem leveren soortgelijke resultaten op bij ‘split-sample’-vergelijking met conventionele Pap-smears in verschillende patiëntengroepen en onder diverse laboratoriumomstandigheden. Bovendien waren er aanzienlijk minder ontoereikende en SBLB-gevallen met SurePath®-glaasjes dan met conventionele Pap-smears. Het SurePath®-glaasje kan dus worden gebruikt als vervanging voor de conventionele Pap-smear voor de detectie van atypische cellen, premaligne laesies, baarmoederhalskanker en alle andere cytologische categorieën zoals gedefinieerd door het Bethesda System.

BEOORDELING VAN SUREPATH® SLIDE-PREPARATIE MET BEHULP VAN DE PREPMATE®-METHODE EN DE MANUAL METHOD

TriPath Imaging heeft een prospectief, multicenter klinisch onderzoek uitgevoerd voor beoordeling van twee wijzigingen in de door de FDA goedgekeurde procedure voor het

prepareren van SurePath®-glaasjes. De volgende wijzigingen in de goedgekeurde procedure voor het prepareren van SurePath®-glaasjes werden aangebracht:

- toevoeging van het PrepMate®-toestel (de PrepMate®-methode) voor automatisering van de eerste handmatige stappen van de PrepStain®-laboratoriumprocedure. De PrepMate® mengt het monster, verwijdert het automatisch uit het SurePath®-monsterpotje met conserveringsmiddel en brengt een laagje van het materiaal aan op PrepStain® Density Reagent in een reageerbuis.
- toevoeging van de *Manual Method* (handmatige methode), waarbij in plaats van het PrepStain®-toestel voor celsuspensie en glaasjeskleuring te gebruiken de celsuspensie handmatig door een laborant op het glaasje wordt aangebracht en gekleurd.

Dit onderzoek evalueerde meer dan 400 gevallen in een geblindeerde vergelijking van de twee alternatieve methoden met de huidige goedgekeurde procedure voor het prepareren van SurePath®-glaasjes. De vergelijking werd gebaseerd op morfologische criteria en kwaliteitscriteria die werden toegepast op de door deze methoden geprepareerde glaasjes.

De primaire doelstellingen van het onderzoek waren:

- beoordeling van de morfologische aspecten en kwaliteitsaspecten van SurePath®-glaasjes geprepareerd met behulp van de PrepMate®-methode in vergelijking met glaasjes geprepareerd volgens de goedgekeurde methode met behulp van het PrepStain®-systeem (dit wordt de PrepStain®-methode genoemd).
- beoordeling van de morfologische aspecten en kwaliteitsaspecten van SurePath®-glaasjes geprepareerd met behulp van de *Manual Method* in vergelijking met glaasjes geprepareerd volgens de goedgekeurde PrepStain®-methode.

Bijkomende doelstellingen van het onderzoek waren:

- bepalen of de mate van overeenkomst tussen de goedgekeurde PrepStain®-methode en de PrepMate®-methode groter was dan alleen door toeval verwacht zou kunnen worden.
- bepalen of de mate van overeenkomst tussen de goedgekeurde PrepStain®-methode en de *Manual Method* groter was dan alleen door toeval verwacht zou kunnen worden.
- beoordeling van de geschiktheid van het materiaal overeenkomstig de PrepStain®-systeemnormen voor het prepareren van SurePath®-glaasjes met behulp van de PrepMate®-methode.
- beoordeling van de geschiktheid van het materiaal overeenkomstig de PrepStain®-systeemnormen voor het prepareren van SurePath®-glaasjes met behulp van de *Manual Method*.

PREPMATE®-TOESTEL

De PrepMate® is een toestel voor gebruik met het PrepStain®-systeem dat twee handmatige stappen van de PrepStain® laboratoriumprocedure automatiseert—het mengen van het monster en het monster in laagjes op het glaasje aanbrengen. De PrepMate® mengt het materiaal grondig, verwijdert het nauwkeurig uit het SurePath®-monsterpotje met conserveringsmiddel en brengt een laagje van het materiaal aan op PrepStain® Density Reagent in een reageerbuis. Een rek dat al is gevuld met monsterpotjes met materiaal, injectiepipetten en reageerbuizen (die de Density-vloeistof bevatten) wordt op het blad van het instrument geplaatst. Het rek bevat maximaal twaalf monsterpotjes, buizen en injectiepipetten, gerangschikt in drie rijen van vier. Monsterpotjes, injectiepipetten en buisje zijn wegwerpartikelen. Zij mogen slechts éénmaal gebruikt worden om de mogelijkheid van materiaalverontreiniging uit te sluiten.

MANUAL METHOD

Bij de *Manual Method* wordt handmatig de celsuspensie in een laagje op de glaasjes aangebracht en het preparaat gekleurd. Afname en verwerking van gynaecologische materiaal zijn identiek voor de handmatige en de goedgekeurde PrepStain®-methode tot het punt waarop het PrepStain®-instrument wordt gebruikt.

Bij de PrepStain®-methode worden gecentrifugeerde celpelleten direct geplaatst op het PrepStain®-instrument voor automatische verwerking tot gekleurde SurePath®-glaasjes.

Bij de *Manual Method* wordt gedemineraliseerd water toegevoegd aan het gecentrifugeerde celpellet, gevolgd door menging op een vortex-mixer om het monster te resuspenden en te randomiseren. Het monster wordt overgebracht naar een settling chamber die op een SurePath® PreCoat-objectglaasje is aangebracht. Nadat het monster goed aan het glaasje is gehecht, wordt het monster gekleurd door middel van een batch-Papanicolaou-kleuring.

VERANTWOORDING GLAASJES

Tabel 17 toont de verantwoording van de glaasjes gebruikt in het klinische onderzoek. Het is belangrijk om op te merken dat de onderzoeksset **drie glaasjes per geval** omvatte.

Tabel 17 Verantwoording glaasjes

	Gevallen	Glaasjes
Totaal aantal opgenomen in onderzoek	471	1.413
Totaal aantal uitgesloten van analyse	–68	–204
Onvolledige documentatie	–39	–117
Glaasjes onjuist geprepareerd	–24	–72
Andere redenen voor uitsluiting *	–5	–15
Totaal aantal opgenomen in analyse	403	1.209

* Ontbrekende monsters, duplicaat patiëntnummers enz.

DEMOGRAFISCHE GEGEVENS POPULATIE

Tabel 18 vermeldt de demografische gegevens voor de leeftijd van de patiënten voor alle gevallen die in de onderzoekspopulatie waren opgenomen.

Tabel 18 Demografische gegevens van de patiënten

Leeftijd	Aantal gevallen
19 of jonger	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Totaal	403

Tabel 19 vermeldt de actuele klinische informatie en tabel 20 de klinische voorgeschiedenis voor alle in de onderzoekspopulatie opgenomen gevallen. Merk op dat de selectie van meer dan één onderdeel was toegestaan, zodat de totaalstelling van de gevallen misschien niet overeenkomt met het totale aantal gevallen in de onderzoekspopulatie.

Tabel 19 Actuele klinische informatie

Klinische informatie	Aantal gevallen
Regelmatische cyclus	241
Onregelmatige cyclus	69
Hysterectomie	16
Zwanger	9
Na miskraam	0
Postnataal	9
Postmenopauzaal	58
Perimenopauzaal	1
Immunosuppressie	0
Abnormale GYN presentatie	0
Vaginale afscheiding	137
Oestrogeensuppletie therapie	19
IUD (spiraaltje)	2
Orale anticonceptie/implantaat	20
Geen geboorteregeling	181
Informatie niet beschikbaar	22

Tabel 20 Klinische voorgeschiedenis

Voorgeschiedenis	Aantal gevallen
Eerder abnormale cytologie	13
Voorgeschiedenis van abnormale bloedingen	36
Biopsie	3
Voorgeschiedenis van carcinoom	1
Chemotherapie	0
Bestraling	0
Colposcopie	9
HIV/aids	0
HPV (wrattenvirus)	0
Herpes	1
Voorgeschiedenis van BTL*	1
Voorgeschiedenis van PID**	57
Geen waargenomen	363

* "Bilateral tubal ligation" = dubbelzijdig afgebonden eileider

* "Pelvic inflammatory disease" = ontsteking in het kleine bekken

ONDERZOEKSRESULTATEN

De doelstelling van dit onderzoek was om te bepalen of de SurePath®-glaasjes geprepareerd met behulp van de PrepMate®-methode en de Manual Method beter waren dan de glaasjes die werden geprepareerd met behulp van de goedgekeurde PrepStain®-methode. De klinische gegevens tonen aan dat de glaasjes geprepareerd door de PrepMate® en de Manual Method qua morfologie en kwaliteit vergelijkbaar zijn met de glaasjes die zijn geprepareerd met de goedgekeurde PrepStain®-methode.

De klinische gegevens tonen ook aan dat de diagnostische resultaten hetzelfde zijn voor de PrepMate®-methode en de Manual Method in vergelijking met de goedgekeurde PrepStain®-methode. Bovendien is er geen verschil tussen de geschiktheid van glaasjes geprepareerd door de PrepMate® en Manual Method en de glaasjes geprepareerd door de goedgekeurde PrepStain®-methode. Deze bevindingen ondersteunen de vergelijkbaarheid van de PrepMate®-methode en de Manual Method met de goedgekeurde PrepStain®-methode.

MORFOLOGIE EN KWALITEIT VAN HET MATERIAAL

Tabel 21 toont de resultaten voor de primaire doelstellingen. De aanvaardbaarheid van de glaasjes geprepareerd door elke methode werd geëvalueerd aan de hand van de morfologie en kwaliteitscriteria in de tabel. Voor elk criterium werd het aandeel aanvaardbare glaasjes berekend samen met het corresponderende betrouwbaarheidsinterval van exact 95%.

Tabel 21 Vergelijking van verhoudingen en betrouwbaarheidsintervallen (CI) voor aanvaardbaarheidscriteria

Prepareermethoden voor glaasjes							
Aanvaardbaarheidscriteria	PrepStain®		PrepMate®		Handmatige methode		
	Verhoudi ng (n/N)	Exact 95% CI	Verhoudi ng (n/N)	Exact 95% CI	Verhoudi ng (n/N)	Exact 95% CI	
	Kleuring	0,9876 (398/403)	0,9713 - 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784 - 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748 - 0,9973
	Helderheid	0,9876 (398/403)	0,9713 - 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713 - 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863 - 0,9999
	Kernaspect	0,9901 (399/403)	0,9748 - 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748 - 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863 - 0,9999
	Cytologie	0,9950 (401/403)	0,9822 - 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748 - 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909- 1,0000
	Clustering	0,9926 (400/403)	0,9784 - 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863 - 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363 - 0,9771
	Celrijkdom	0,9305 (375/403)	0,9011 - 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185 - 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127 - 0,9615

De mate van aanvaardbaarheid van de PrepMate® en de Manual Method is bijna altijd gelijk aan of groter dan die van de PrepStain®-methode. Bovendien overlapt het betrouwbaarheidsinterval van exact 95% voor de PrepMate®-methode en de Manual Method in aanzienlijke mate die van de goedgekeurde PrepStain®-methode voor elk criterium. Dit impliceert dat de glaasjes geprepareerd door de PrepMate®-methode en de Manual Method wat betreft morfologie en kwaliteit vergelijkbaar zijn met de glaasjes die zijn geprepareerd met de goedgekeurde PrepStain®-methode. Daarom is de preparaatkwaliteit hetzelfde voor de goedgekeurde methode en de twee testmethoden.

OVEREENKOMST IN DIAGNOSE

Deze analyse vergelijkt de diagnose van de glaasjes geprepareerd volgens elke methode. Omdat deze gegevens zijn afgeleid van gesplitste monsters, is de in tabel 22 en 23 gepresenteerde diagnosematrix gebaseerd op gepaarde monsters waarbij elke testmethode voor het prepareren van glaasjes (PrepMate® en Manual Method) wordt vergeleken met de goedgekeurde PrepStain®-methode. In het gunstigste geval zal de diagnose die aan de hand van de door twee methoden geprepareerde glaasjes wordt gesteld, hetzelfde zijn. Dit wordt weergegeven door het aantal glaasjes met een identieke diagnose dat verschijnt op de hoofd diagonaal van elke tabel.

De eerste maat voor overeenstemming is het aandeel glaasjes op de hoofd diagonaal en de corresponderende betrouwbaarheidsintervallen van exact 95%. De tweede maat voor overeenstemming wordt verkregen uit de kappastatiek, die voor elke vergelijking werd berekend en getoetst. De test bepaalt of de mate van overeenkomst tussen de twee methoden groter is dan alleen door toeval verwacht zou kunnen worden. Omdat de waarnemingen geordend zijn, is het belangrijker om waarnemingen te hebben die op of dichtbij de hoofd diagonaal liggen. De gewogen kappastatiek geeft meer gewicht aan waarnemingen die in de tabellen op of in de nabijheid van de hoofd diagonaal liggen.

VERGELIJKING VAN DE GOEDGEKEURDE PREPSTAIN®- EN PREPMATE®-METHODE

In Tabel 22 is het aantal glaasjes op de hoofddiagonaal 367 (2+334+8+6+5+11+1) en het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal 0,9107 (367/403) met een betrouwbaarheidslimiet van exact 95% van 0,8785 tot 0,9366.

Als ontoereikende glaasjes van de tabel worden uitgesloten door de eerste rij en de eerste kolom te verwijderen, blijven er 397 glaasjes over. Het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal is 0,9194 (365/397) met 95% betrouwbaarheidslimiet van 0,8881 tot 0,9442.

De in tabel 22 getoonde resultaten geven aan dat de goedgekeurde PrepStain®-methode en de PrepMate®-methode een groot aandeel glaasjes met een overeenkomstige diagnose hebben, zoals aangegeven door het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal in de tabel. Bovendien geeft de gewogen kappa-analyse aan dat de overeenkomst veel groter was dan alleen aan het toeval zou kunnen worden toegeschreven.

Tabel 22 Ondertabellen met kenmerken van diagnose door de PrepStain®- en de PrepMate®-methode

Diagnose met PrepStain®-methode										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypie	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totaal
Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
Atypie	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Totaal	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

VERGELIJKING VAN DE GOEDGEKEURDE PREPSTAIN®- EN PREPMATE®-METHODE

In tabel 23 is het aantal glaasjes op de hoofddiagonaal 353 (3+315+6+10+7+11+1). Het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal is 0,8759 (353/403). De exacte binominale 95% betrouwbaarheidslimiet voor dit aandeel is 0,8397 tot 0,9065.

Als ontoereikende glaasjes van de tabel worden uitgesloten door de eerste rij en de eerste kolom te verwijderen, blijven er 398 glaasjes over. Het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal is 0,8794 (350/398) met een 95% betrouwbaarheidslimiet van 0,8433 tot 0,9097. De in tabel 23 getoonde resultaten geven aan dat de goedgekeurde PrepStain®-methode en de Manual Method een groot aandeel glaasjes met overeenkomst in diagnose hebben, zoals aangegeven door het aandeel glaasjes op de hoofddiagonaal in de tabel. Bovendien geeft de gewogen kappa-analyse aan dat de overeenstemming veel groter was dan alleen aan het toeval zou kunnen worden toegeschreven. Daarom is het diagnostische resultaat hetzelfde voor de goedgekeurde methode en de twee testmethoden.

Tabel 23 Ondertabellen met kenmerken van diagnose door de PrepStain®- en de PrepMate®-methode

Diagnose met PrepStain®-methode										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypie	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totaal
Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
Atypie	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
kanker	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Totaal	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

GESCHIKTHEID VAN DE GLAASJES

Voor elke preparatiemethode werd de geschiktheid van de glaasjes bepaald. De gegevens werden geanalyseerd met behulp van een tweezijdige McNemar-toets.¹⁸

Tabel 24 toont de resultaten wat betreft geschiktheid wanneer de goedgekeurde PrepStain®-methode wordt vergeleken met de PrepMate®-methode.

Tabel 24 Resultaten wat betreft geschiktheid voor glaasjes geprepareerd met de PrepMate®- en de PrepStain®-methode

Resultaat PrepStain®-methode				
Resultaat PrepMate®-methode	SAT of SBLB	SAT of SBLB		UNSAT
	UNSAT	398	3	401
		0	2	2
		398	5	403

Tabel 25 toont de resultaten wat betreft geschiktheid wanneer de goedgekeurde PrepStain®-methode wordt vergeleken met de *Manual Method*.

Tabel 25 Resultaten wat betreft geschiktheid voor glaasjes geprepareerd met de handmatige en de PrepStain®-methode

Resultaat PrepStain®-methode				
Resultaat Manual Method	SAT of SBLB	SAT of SBLB		UNSAT
	UNSAT	398	2	400
		0	3	3
		398	5	403

Deze twee vergelijkingen tonen aan dat de PrepMate®-methode en de *Manual Method* niet verschillen van de goedgekeurde PrepStain®-methode wat betreft de geschiktheid van de glaasjes.

ONDERZOEK VAN "DIRECT-TO-VIAL"

Na de initiële FDA-goedkeuring van het PrepStain®-systeem voerde TriPath Imaging een groot multicenter onderzoek uit van het PrepStain®-systeem wanneer het werd gebruikt zoals bedoeld met "direct-to-vial"-materiaal. Bij de vorige klinische onderzoeken werd een 'split-sample'-methode gebruikt waarin het monster eerst werd gebruikt voor het vervaardigen van een conventioneel Pap-smeerglaasje en het resterende monster in de SurePath®-verzamelvloeistof werd geplaatst en verwerkt door het PrepStain®-systeem voor het vervaardigen van een SurePath®-glaasje. Het is duidelijk vastgesteld dat bij een 'split-sample'-opzet de ware resultaten van de test die wordt geprepareerd uit het resterende celmateriaal onderschat worden¹².

Dit onderzoek vergeleek de resultaten van SurePath®-glaasjes geproduceerd uit "direct-to-vial"-monsters met die van conventionele Pap-smears. De resultaten met SurePath® werden vergeleken met resultaten van een historisch cohort met conventionele Pap-smears. In dit onderzoek werd specifiek beoordeeld of SurePath®-glaasjes een verbetering betekenden voor de detectie van hooggradige intraepiteliale laesies (HSIL), adenocarcinoom *in situ* en carcinoom (HSIL+). Alle beschikbare biopsiegegevens werden verzameld voor de beide populaties glaasjes.

De SurePath®-populatie bestond uit 58.580 glaasjes prospectief afgenomen in 57 klinieken die voor bijna 100% van conventionele Pap-smeerafname waren omgeschakeld naar de SurePath®-materiaalafname. Het bij deze klinieken afgenomen materiaal werd voor verwerking naar drie klinische locaties verzonden.

De conventionele populatie bestond uit 58.988 glaasjes uit dezelfde klinieken als de SurePath®-glaasjes. Deze historische populatie werd verzameld door te beginnen met de meest recente glaasjes voordat de klinieken overschakelden op SurePath® en vervolgens terug te gaan in de tijd tot de groep conventionele glaasjes en de groep SurePath®-glaasjes op elke klinische locatie qua aantal ongeveer even groot waren.

De resultaten van dit onderzoek toonden een detectieverhouding aan van 405/58.580 voor de SurePath®-glaasjes vergeleken met 248/58.988 voor de conventionele glaasjes, met als resultaat een detectieverhouding van respectievelijk 0,691% en 0,420% (zie tabel 26). Voor deze klinische locaties en deze onderzoekspopulaties betekent dit een toename van 64,4% ($p < 0,00001$) in detectie van HSIL+-laesies voor de SurePath®-glaasjes.

Tabel 26 Vergelijking van detectieverhouding per locatie**HSIL+**

Locatie	Conventioneel			SurePath®		
	Totaal	HSIL+	Procent (%)	Totaal	HSIL+	Procent (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Totaal	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Locatie	Conventioneel			SurePath®		
	Totaal	LSIL+	Procent (%)	Totaal	LSIL+	Procent (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Totaal	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Locatie	Conventioneel			SurePath®		
	Totaal	ASCUS+	Procent (%)	Totaal	ASCUS+	Procent (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Totaal	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Ontoereikend

Locatie	Conventioneel			SurePath®		
	Totaal	UNSAT+	Procent (%)	Totaal	UNSAT+	Procent (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Totaal	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Opmerking: variaties tussen de resultaten van locaties onderling worden verwacht. Elk laboratorium moet zorgvuldig de kwaliteit van zijn werkzaamheden bewaken.

PROCEDURE

De volledige procedures voor het prepareren van SurePath®-glaasjes staan vermeld in de gebruikershandleiding voor het PrepStain®-systeem

BIBLIOGRAFIE

- Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
- Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23
- Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
- Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
- Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
- Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
- McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119
- Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
- Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29
- Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
- Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
- Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
- McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12: 153-7
- Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
- College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
- Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
- Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
- Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
- Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NAAM EN PLAATS VAN BEDRIJF

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 VS
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive Burlington, NC 27215

informatie over PrepStain®: 1-800-426-2176 of 336-222-9707

Fax: 336-222-8819.

Amerikaanse octrooinummers: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.

Canadese octrooinummers: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.

Japanse octrooinummers: 2837076, 2781513.

Europese octrooinummers: 0590504, 0590447, 0590506B.

Overige octrooien voor de V.S. en andere landen aangevraagd.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

TriPath Imaging®, Inc.
Indlægseddell for PrepStain® systemet

ANVENDELSE

PrepStain® systemet (tidligere AutoCyte® PREP systemet) er en væskebaseret præparationsproces, der anvender et tyndt lag celler. PrepStain® systemet frembringer SurePath® objektglas, der er beregnet som erstatning for konventionelle gynækologiske Pap smears. SurePath® objektglas (tidligere AutoCyte® PREP objektglas) er beregnet til brug ved screening for og detektion af cervical cancer, præ-cancerøse læsioner, atypiske celler og alle andre cytologiske kategorier som defineret af *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses*.^{1, 19}

RESUMÉ OG FORKLARING AF PROCEDUREN

SurePath® systemet konverterer en flydende suspension af en cervical celleprøve til et adskilt farvet, homogent tyndt lag celler, mens diagnostiske celleklynger bibeholdes.²⁻⁹ Processen omfatter cellekonservering, randomisering, berigelse af diagnostisk materiale, pipettering, sedimentering, farvning og anbringelse af dækglasser for at skabe et SurePath® objektglas til brug ved rutinemæssig cytologisk screening og kategorisering som defineret af *The Bethesda System*.¹ SurePath® objektglasset giver en velkonserveret population af farvede celler indenfor en cirkel på 13 mm i diameter. Lufttørnings-artefakter, dækkende, overlappende cellulært materiale og debris bliver i det store og hele elimineret. Antallet af hvide blodlegemer bliver signifikant reduceret, hvilket giver mulighed for lettere visualisering af epitelielceller, diagnostisk relevante celler og infektiøse organismer.

SurePath® processen begynder med, at uddannet medicinsk personale anvender en anordning til prøvetagning af børstetypen (e.g., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - The Netherlands) eller en kombineret intracervikal børste/plasticspatel (f.eks. Cytobrush® Plus GT og Pap Perfect®-spatel, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) med aftageligt hoved/aftagelige hoveder til at tage en gynækologisk prøve. I stedet for at udstryge celler indsamlet med anordningerne til prøvetagning på et objektglas, adskilles anordningernes hoveder fra hånden og bliver anbragt i et hætteglas med SurePath® Preservative Fluid. Hætteglasset får hætte på, etiketteres og sendes med tilhørende papirer til laboratoriet til behandling. Hovederne af prøvetagningsanordningerne fjernes aldrig fra det konserverende hætteglas indeholdende den indsamlede prøve.

På laboratoriet blandes den konserverede prøve efter vortex metoden og overføres derefter til PrepStain® Density Reagent. Et berigelsestrin, bestående af centrifugal sedimentering gennem Density Reagent, fjerner delvis ikke-diagnostisk debris og overskydende inflammatoriske celler fra prøven. Efter centrifugering resuspenderes de pelletterede celler, hvorefter de blandes og overføres til et PrepStain® *Settling Chamber* monteret på et SurePath® *PreCoat* objektglas. Cellerne sedimenteres ved tyngdekraft, hvorefter de bliver farvet ved brug af en modificeret Papanicolaou farvningsprocedure. Objektglasset renses med xylene eller en xyleneerstatning og får dækglasser på. Cellerne, der forekommer indenfor en cirkel på 13 mm, undersøges under mikroskop af uddannede cytoteknikere og patologer med adgang til anden relevant baggrundsinformation om patienten.

BEGRENSNINGER

- Gynækologiske prøver til præparater, der anvender PrepStain® systemet, bør indsamles ved brug af en børstelignende prøvetagningsanordning eller en kombineret intracervikal børste/plasticspatel med aftageligt hoved/aftagelige hoveder i henhold til den af producenten angivne procedure for prøvetagning. Træspatler bør ikke anvendes med PrepStain® systemet. Kombinerede intracervikale børster/plasticspatler, der ikke kan aftages, bør ikke anvendes med PrepStain® systemet.
- Uddannelse af autoriserede personer er en forudsætning for fremstillingen og evalueringen af SurePath® objektglas. Cytoteknikere og patologer vil blive uddannet i vurdering af morfologi på SurePath® objektglas. Uddannelsen vil omfatte en færdighedsprøve. Laboratoriekunder vil blive forsynet med brugen af objektglas til instruktionsbrug og testsæt. TriPath Imaging®, Inc. vil også yde hjælp ved præparation af uddannelsesobjektglas fra hver kundes egne patientpopulationer.
- Korrekt ydeevne af PrepStain® systemet kræver, at der udelukkende anvendes materialer, der støttes af TriPath Imaging, eller anbefales af TriPath Imaging, sammen med PrepStain® System. Anvendte materialer skal bortskaffes korrekt i henhold til institutionelle og statslige regler.
- Alle materialer er kun beregnet til engangsbrug og kan ikke genbruges.

Reagenser



Til in vitro diagnostisk brug. Kun til laboratoriebrug.

Advarsler



SurePath® Preservative Reagents indeholder en opløsning af denatureret etanol. Opløsningen indeholder små mængder af metanol og isopropanol. Bør ikke drikkes.



PrepStain® Density Teagens indeholder natrium azide. Bør ikke drikkes. Natrium azide kan reagere med bly eller kobber rør og danne høj eksplosive metal azide. Brug store mængder vand ved bortskaffelse for at undgå ophobning af azide. For yderligere informationer venligst referer til publikation DHHS (NIOSH) Nr. 78-127 udgave 13. De website: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG combi cytologi farvevæsker indeholder alkohol. Giftig ved indtagelse. Undgå dampe. Brug tilstrækkelig ventilation. Undgå kontakt med hud og øjne. Yderst brandbar.

FORSIGTIGHEDSREGLER

- God laboratoriepraksis bør følges, og alle procedurer for brugen af PrepStain® systemet bør nøje overholdes.
- Reagenser bør opbevares ved stuetemperatur (15° til 30° C) og anvendes inden deres udløbsdato for at sikre korrekt ydeevne. Opbevaringsbetingelserne for SurePath® Preservative Fluid uden cytologiske prøver er op til 36 måneder fra fremstillingsdatoen ved stuetemperatur (15° to 30° C). Opbevaringsgrænsen for SurePath® Preservative Fluid med cytologiske prøver er 6 måneder ved køleskabstemperatur (2° til 10° C) eller 4 uger ved stuetemperatur (15° til 30° C).
- Undgå plasken eller generering af aerosoler. Brugere bør anvende passende hånd-, øjen- og beklædningsbeskyttelse.
- SurePath® *Preservative Fluid* blev testet for antimikrobiel virkning overfor: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* og *Aspergillus niger* og blev fundet være effektiv. SurePath® Preservative prøver inokuleret med 10⁶ CFU/ml af hver art gav ingen vækst efter 14 dages inkubation (28 dage for *Mycobacterium tuberculosis*) under standardbetingelser. Universelle forsigtighedsregler for sikker håndtering af biologiske væsker bør imidlertid praktiseres til enhver tid.
- Manglende overholdelse af de anbefalede procedurer som angivet i brugervejledningen for PrepStain® systemet kan kompromittere ydeevnen.

NØDVENDIGE MATERIALER

Der henvises til brugervejledningen for PrepStain® systemet for fuldstændig information med hensyn til reagenser, komponenter og tilbehør. Ikke alle materialer, der er angivet nedenfor, er påkrævede for at klargøre SurePath® objektglas manuelt (uden brug af PrepStain® instrumentet).

Medfølgende materialer

- PrepStain® *Instrument*
- SurePath® *Preservative Fluid Collection Vial* (inkluderer SurePath® *Preservative Fluid*)
- Intracervikale anordning til prøvetagning med aftageligt hoved/aftagelige hoveder
- PrepStain® *Density Reagent*
- PrepStain® *Syringing Pipettes*
- PrepStain® *Settling Chambers*
- Cytology *Stain Kit*
- SurePath® *PreCoat* objektglas
- Centrifuge Tubes*
- Slide og Tube Racks*
- Disposable Transfer og Aspirator Tips*

Materialer, der ikke medfølger

- Vortex Mixer*
- Deioniseret vand (pH 7,5 til 8,5)
- Isopropanol og alkohol af reagenttype
- Klæringsmiddel, monteringsmedia og dækglasser af glas

Opbevaring

Opbevaringsbetingelserne for SurePath® *Preservative Fluid* uden cytologiske prøver er op til 36 måneder fra fremstillingsdatoen ved stuetemperatur (15° til 30° C).

Grænsen for opbevaring af SurePath® *Preservative Fluid* med cytologiske prøver er 6 måneder ved køleskabstemperatur (2° til 10° C) eller 4 uger ved stuetemperatur (15° til 30° C).

DIAGNOSTISK FORTOLKNING OG PRÆPARATTILSTRÆKKELIGHED

Efter TriPath Imaging-autoriseret brugertræning på PrepStain® systemet og SurePath® objektglas, gælder Bethesda systemets cytologiske, diagnostiske kriterier, der for nærværende anvendes i cytologilaboratorier for konventionelle Pap smears, for SurePath® slides.¹ Nye anbefalede retningslinjer i Bethesda 2001 Reporting System omhandler væskebaserede forberedelser og definerer hvordan tilstrækkelig cellemængde specifikt for disse forberedelser fastsættes.

Ved fravær af unormale celler betragtes et præparat som værende utilfredsstillende, hvis en eller flere af følgende betingelser er tilstede:

- Utilstrækkeligt antal diagnostiske celler (færre end 5.000 skælagtige epitelceller pr. præparat). Følgende er de anbefalede procedurer for estimering af tællingen af velbevarede pladeepitelceller på SurePath® objektglas:
 - For hver mikroskopmodel anvendt ved screening, gennemgås producentens brugervejledning for mikroskopet, eller mikroskopets producent kontaktes for at bestemme arealet af synsfeltet ved brug af det foretrukne okular og 40x objektivet. Alternativt beregnes feltets areal ved brug af et hæmocytometer eller tilsvarende måleskala for mikroskopiobjektglas (feltareal = πr^2 , hvor r er feltets radius).
 - Det minimale, gennemsnitlige antal celler pr. 40x objektiv felt bør bestemmes ved at dividere det 130 mm² omtrentlige celledeposeringsareal for SurePath® objektglasset med feltarealet for det specifikke mikroskop. Det resulterende tal divideres derefter op i det 5000 celle minimum. Det resulterende tal er det anbefalede, minimale gennemsnitsantal for epitelceller i et 40x objektivs synsfelt. Skriv dette antal ned og behold det til brug som rutine reference for cytoteknikeren. Bethesda 2001-retningslinjerne angiver det omtrentlige antal celler pr. felt for en 13 mm forberedelse.
 - Der skal tælles mindst ti felter horisontalt eller vertikalt langs midten af forberedelsens diameter.

- Som en praktisk måde til at bedømme cellularitet, kan makroskopisk evaluering af den visuelle tæthed af det færvædede præparat anvendes til at kontrollere tilstrækkeligheden af korsler af præparatproduktioner. Der findes imidlertid ingen erstatning for den primære mikroskopiske evaluering af cytoteknikeren under screeningsprocessen.
- (2) 75% eller mere af de cellulære komponenter skjules af inflammation, blod, bakterier, mucus eller artefakter, der afskærer cytologisk fortolkning af objektglasset.

Enhver unormal eller tvivlsom screening-observation skal henvises til en patolog til kontrol og diagnosticering. Patologen skal notere enhver for diagnosticeringen betydningsfuld cellulær morfologisk ændring.

YDELSESKARAKTERISTIKA: RAPPORTERING AF KLINISKE UNDERSØGELSER

FØRSTE SPLIT-SAMPLE UNDERSØGELSE

TriPath Imaging gennemførte en prospektiv, maskeret, split-sample, matched-pair klinisk undersøgelse på forskellige undersøgelsessteder for at sammenligne de diagnostiske resultater af SurePath® objektglas produceret af PrepStain® systemet med konventionelt præpareret Pap smears. Formålet med undersøgelsen var at vurdere SurePath® ydelse sammenlignet med den konventionelle Pap smear for detektion af cervical cancer, præcancerøse læsioner og atypiske celler hos forskellige patientpopulationer og laboratorieforhold. Tilstrækkelighed blev også vurderet for begge præparationer.

Følgende anbefalingerne i FDA "Points to Consider" dokumentet for Cervical Cytology Devices¹⁰, blev hver konventionel Pap smear først præpareret, hvorefter den residuale prøve, der var blevet tilbage på prøvetagningsanordningen af børstetypen, blev anbragt i et SurePath® Preservative Fluid opsamlingshætteglas.

Efter transport til laboratoriet, blev hver konserveret cellesuspension behandlet i henhold til protokollen for PrepStain® systemet. Det resulterende SurePath® objektglas og det matchende, konventionelle Pap smear objektglas blev screenet manuelt og diagnosen stillet uafhængigt ved brug af diagnostiske kategorier i overensstemmelse med The Bethesda System. På hvert undersøgelsessted evaluerede en patolog alle unormale objektglas.

I overensstemmelse med metoden beskrevet af Shatzkin¹¹, anvendte denne undersøgelse en uafhængig patolog som reference på et udpeget henvisningssted, som gennemgik alle unormale og afvigende tilfælde, reparationstilfælde og 5% af de normale tilfælde fra alle undersøgelsesstederne på en maskeret måde for at give diagnostisk "sandhed" for hvert tilfælde.

PATIENTKARAKTERISTIKA

Alderen for kvinder i undersøgelsen strakte sig fra 16 til 87 år, med 772 værende post-menopausale. Af de 8.807 patienter, der er repræsenteret i undersøgelsen, udviste 1.059 en baggrund med tidligere abnorme Pap smears. Hele den undersøgte patientpopulation bestod af følgende racemæssige grupper: Kaukasiere (44%), afro-amerikanere (30%), asiater (12%), latin-amerikanere (10%), indfødte amerikanere (3%) og andre (1%).

Udelukkelse blev foretaget ved ukorrekt papirarbejde, patienter under 16 år gamle, patienter med hysterektomier og cytologisk utilfredsstillende og utilstrækkelige prøver. Der blev gjort en indsats for at inkludere så mange tilfælde af cervical cancer og præcancerøs lidelse som muligt ved at give adgang til patienter med høj risiko, uregelmæssigt screenet og henviste.

Af 10.335 total tilfælde, blev 9.046 accepteret og evalueret på tværs af otte forskellige undersøgelsessteder. Af disse 9.046 tilfælde, opfyldte 8.807 kravene i The Bethesda System for præparat tilstrækkelighed og tilgængelige for fuldstændig diagnose af begge præparater.

UNDERSØGELSENS RESULTATER

Målet med den kliniske afprøvning var at sammenligne ydeevnen af SurePath® objektglas produceret af PrepStain® systemet med konventionelt præpareret Pap smears. Objektglas for begge præparat typer blev klassificeret i henhold til kriterierne i *The Bethesda System*. Undersøgelsesprotokollen havde bias til fordel for den konventionelle Pap smear, fordi en konventionel Pap smear altid blev klargjort først, herved begrænsende SurePath® objektglasset til residuelt materiale, der er tilbage på anordningen af børste-typen (den del af prøven, der normalt ville blive kasseret).¹² den beregnede anvendelse af SurePath® testen er en direkte-til-hætteglas applikation, hvor alle opsamlede celler vil være tilgængelige for PrepStain® systemet.

For at sammenligne følsomhederne ved SurePath® og konventionelle Pap smear objektglas, når de aflæses manuelt, blev niveauet for abnormalitet for tilfældene bestemt af referencepatologen og sammenlignet med diagnoser, stillet af undersøgelsesstederne. Referencediagnose blev baseret på den mest abnorme diagnose for det ene eller det andet objektglaspræparat af den uafhængige referencepatolog. Disse resultater blev brugt som den "sande" diagnose eller referenceværdi for sammenligningen af undersøgelsesstedets resultater ved brug af PrepStain® systemets præparering af SurePath® objektglas versus konventionel Pap smear præparering. Nulhypotesen, at følsomheden ved de to metoder for objektglaspræparation er den samme, blev testet ved brug af McNemar chi-square test for parrede data.¹³ I denne statistiske test, blev afvigende resultater for de to præparationsmetoder sammenlignet.

Tabel 1 viser en direkte sammenligning af alle undersøgelsesstedernes resultater for SurePath® slides versus konventionelle slides for de diagnostiske behandlingskategorier indenfor normale grænser (WNL), atypiske pladeepitelceller af ubestemt signifikans/atypiske glandulære celler af ubestemt signifikans (ASCUS/AGUS), low-grade skællet intraepitelial læsion (LSIL), high-grade skællet intraepitelial læsion (HSIL) og cancer (CA).

Tabel 1 Første split-sample undersøgelse: 8.807 matchede prøver — Sammenligning af site resultater — Ingen referencepatolog

Resultater efter site								
Site nr.	Objekt-glastype	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
Total	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®

CN = Konventionel

Tabel 2 viser en direkte sammenligning af site resultater for SurePath® præparationsmetoden vs. konventionel Pap smear præparation for alle diagnostiske behandlingskategorier.

Tabel 2 Første split-sample undersøgelse: 8.807 matchede prøver
Sammenligning af resultater fra alle sites — Ingen referencepatolog

		Konventionelt præpareret Pap Smear						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	WNL	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7.768	531	39	271	177	21	8.807

Ingen uafhængig referencepatologs resultater genspejler sig i tabel 1 eller tabel 2.

Tabel 3 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultater fra alle sites for tilfælde benævnt efter referencemetoden som ASCUS/AGUS — Uharmonisk fejlanalyse

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	113	205	318
	Fejl	180	229	409
		293	434	727

Succes = ASCUS/AGUS

Fejl = WNL & reaktiv/Reparativ

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 1,62$, $p = 0,2026$

Fejl, konventionel: 205

Fejl, SurePath®: 180

Tabel 3 viser resultaterne for tilfælde, identificeret af referencepatologen til at være ASCUS eller AGUS. Denne evaluering tillader analyse af de uharmoniske fejl til at vurdere metodernes følsomhed i split-sample undersøgelsesdesign. Fejl omfatter WNL og reaktiv/reativ. Da p-værdien bestemt af McNemar testen overskred 0,05, var resultaterne af SurePath® og konventionel Pap smear ens.

Tabel 4 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultater for alle sites for tilfælde benævnt efter referencemetoden som LSIL — Uharmonisk fejlanalyse

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	140	63	203
	Fejl	54	86	140
		194	149	343

Succes = LSIL

Fejl = WNL, reaktiv/reativ & ASCUS/AGUS

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 0,69$, $p = 0,4054$

Fejl, konventionel: 63

Fejl, SurePath®: 54

Tabel 4 viser resultaterne for tilfælde identificeret af referencepatologen som værende LSIL. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reativ og ASCUS/AGUS. Som med ASCUS/AGUS, var følsomheden ved de to metoder i split-sample undersøgelsen statistisk ens med en p-værdi udover 0,05.

Tabel 5 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultater fra alle sites for tilfælde benævnt af referencemetoden som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL er ikke en fejl)

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	160	28	188
	Fejl	36	38	74
		196	66	262

Succes = HSIL+

Fejl = WNL, reaktiv/reativ & ASCUS/AGUS

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 1,00$, $p = 0,3173$

Fejl, konventionel: 28

Fejl, SurePath®: 36

Tabel 5 viser resultaterne for tilfælde identificeret af referencepatologen som værende HSIL+. I denne sammenligning blev LSIL ikke betragtet som en fejl, men mere som en afvigelse.^{10,14,15} Fejl omfatter WNL, reaktiv/reativ og ASCUS/AGUS. Følsomhedsanalysen af de uharmoniske fejl viste statistisk ekvivalens for metoderne i split-sample undersøgelsen.

Tabel 6 Første split-sample undersøgelse: Uharmonisk fejlanalyse for cancertilfælde (HSIL er ikke en fejl; LSIL betragtes som en fejl)

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	19	2	21
	Fejl	5	1	6
		24	3	27

Succes = Cancer

Fejl = WNL, reaktiv/reativ ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 1,645$, $p = 0,1980$

Fejl, konventionel: 2

Fejl, SurePath®: 5

Tabel 6 viser resultaterne (alle undersøgelsessteder) for tilfælde bedømt til at være cancer af referencemetoden. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reativ, ASCUS/AGUS og LSIL. Sensitivitetsanalysen af de uharmoniske fejl viste statistisk ekvivalens af metoderne. Disse 27 tilfælde af cancer blev inkluderet i re-evalueringundersøgelsen. Disse data kan findes i tabel 9.

Tabel 7 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultaterne fra alle undersøgelsessteder for tilfælde benævnt efter referencemetoden som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL blev betragtet som en fejl i denne analyse)

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	94	33	127
	Fejl	67	68	135
		161	101	262

Succes = (HSIL+)

Fejl = WNL, reaktiv/reativ ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 11,56$, $p = 0,0007$

Fejl, konventionel: 33

Fejl, SurePath®: 67

Tabel 7 viser resultaterne for tilfælde identificeret af referencepatologen som værende HSIL+. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reativ, ASCUS/AGUS og LSIL. Skønt ikke konsistent med den oprindelige undersøgelsesprotokol¹⁰, blev der udført en statistisk sammenligning af metoderne, hvor LSIL blev betragtet som en diagnostisk fejl overfor et tilfælde bestemt som værende HSIL+ af den enkelte, uafhængige referencepatolog. I denne statistiske sammenligning af diagnostiske følsomheder, når LSIL betragtes som en fejl, modsat en mindre afvigelse, ville SurePath® objektglas præpareret efter PrepStain® systemet ikke være lig med den konventionelt præparerede Pap smear for detektion af HSIL+ abnormalitet i split-sample undersøgelsen.

MASKERET RE-EVALUERING AF HSIL+ TILFÆLDE

En ny evaluering blev gennemført for at afgøre, om resultaterne var påvirkede af præpareringskvaliteten eller subjektivitet ved fortolkningen. For at kunne vurdere de 262 tilfælde, der var blevet diagnosticeret som HSIL+ i den oprindelige undersøgelse (tabel 7), blev der gennemført yderligere en evaluering efter implementering af et nyt uddannelsesprogram for cytologifagfolk beregnet på at fremhæve konsistent fortolkning mellem de diagnostiske grupper i The Bethesda System. Disse tilfælde af HSIL+ blev genmaskerede som del af en re-evaluering bestående af ialt 2.438 prøver, der var præpareret ved brug af den samme split-sample protokol. Resultater fra undersøgelsesstederne for de to præparationer blev derefter sammenlignet med en ny referenceværdi, der krævede enighed blandt mindst to af tre uafhængige referencepatologer for den mest abnorme, cytologiske diagnose.

I referenceprocessen for re-evalueringen, blev begge objektglaspræparationer fra de uharmoniske tilfælde (PrepStain®-præparerede SurePath® objektglas og konventionelt præparerede objektglas) screenet igen af en anden cytotechniker, og nyligt identificerede abnormaliteter blev tilføjet dem, fra den indledende screening. Tre referencecytologer evaluerede derefter alle uharmoniske tilfælde ved brug af en maskeret protokol. Denne mere stringente referencemetode reducerede antallet af HSIL+ referencetilfælde fra 262 i den oprindelige undersøgelse til 209 i re-evalueringen. Forskellen på 53 tilfælde kan forklares som følger:

48 tilfælde blev diagnosticeret efter den mere stringente referencemetode som LSIL eller mindre svære; tilstrækkeligheden af 3 tilfælde blev bedømt utilfredsstillende ved re-evaluering; og de tilbageværende 2 tilfælde var ikke tilgængelige for vurdering i den maskerede re-evalueringundersøgelse.

Tabel 8 Re-evalueringundersøgelse: Uharmonisk fejlanalyse for 209 oprindelige HSIL+ tilfælde re-evalueret efter de mere stringente referencetriterier involverende tre uafhængige referencepatologer

		Konventionelt præpareret objektglas		
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	153	26	179
	Fejl	24	6	30
		177	32	209

Succes = HSIL+

Fejl = WNL, reaktiv/reativ ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat af McNemar test: $X^2mc = 0,02$, $p = 0,8875$

Fejl, konventionel: 26

Fejl, SurePath®: 24

Tabel 8 viser resultaterne for tilfælde identificeret af referencepatologen som værende HSIL+. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reativ, ASCUS/AGUS og LSIL. I denne sammenligning blev LSIL betragtet som en diagnostisk fejl mod et tilfælde bestemt som HSIL+ af den uafhængige referencepatolog. Sammenligning af diagnostiske følsomheder viste statistisk ekvivalens mellem de to metoder.

Tabel 9 Re-evalueringundersøgelse: Uharmonisk fejlanalyse for cancertilfælde (HSIL er ikke en fejl; LSIL betragtes som en fejl)

Konventionelt præpareret objektglas				
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	32	3	35
	Fejl	3	0	3
		35	3	38

Succes = Cancer

Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat af McNemar test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fejl, konventionel: 3

Fejl, SurePath®: 3

Tabel 9 viser resultaterne for tilfælde bedømt til at være cancer efter den nye referencemetode (alle undersøgelsessteder). Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ, ASCUS/AGUS og LSIL. En fejl resulterede fra en LSIL fortolkning. Alle andre fejl involverede fortolkning af objektglas som ASCUS/AGUS eller WNL. Sensitivitetsanalyse af de uharmoniske fejl viste statistisk ækvivalens for metoderne.

Den maskerede re-evaluering indeholdt 2097 nye tilfælde, der blev anvendt til at maskere de oprindelige HSIL+ prøver. Analyse og sammenligning af præparaterne fra disse nye tilfælde følger i tabel 10.

Tabel 10 Re-evalueringundersøgelse: 2097 Direkte site resultatsammenligning — Ingen referencepatolog

Konventionelt præpareret Pap Smear								
PrepStain® præpareret SurePath® Slide		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
	WNL	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Af de 2097 nye tilfælde beskrevet ovenfor, blev 77 diagnosticeret HSIL+ af referencepatologer. Tabel 11 viser sensitivitetsanalyse for disse 77 HSIL+ tilfælde.

Tabel 11 Re-evalueringundersøgelse: Sammenligning af resultaterne fra alle undersøgelsessteder for tilfælde benævnt efter referencemetoden som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL blev betragtet som en fejl i denne analyse)

Konventionelt præpareret objektglas				
		Succes	Fejl	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	Succes	25	21	46
	Fejl	21	10	31
		46	31	77

Succes = HSIL+

Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat af McNemar test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fejl, konventionel: 21

Fejl, SurePath®: 21

Analyse af de uharmoniske fejl i tabel 11 viste et lige antal HSIL+ svipsere for begge præpareringsmetoder. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ, ASCUS/AGUS og LSIL. Den statistiske test demonstrerede ækvivalens mellem de to metoder i split-sample design, også når LSIL betragtes som en fejl mod en referenceværdi af HSIL+.

Tabel 12 opsummerer de beskrivende diagnoser ved benigne fund for alle undersøgelsessteder.

Tabel 12 Første split-sample undersøgelse: Resumé af benigne cellulære ændringer

Beskrivende diagnose (Antal patienter: 8.807)	PrepStain® præpareret SurePath® Slide		Konventionelt præpareret objektglas	
	N	%	N	%
Benigne cellulære ændringer				
*Infektion:				
<i>Candida</i> species	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> arter	6	0,1	2	<0,1
Bakteria (andre)	52	0,6	191	2,2
**Reaktive reparative ændringer	424	4,8	319	3,6

* For Infektionskategori ovenfor, er observationer af infektiøse midler rapporteret. Mere end én klasse organismer kan være repræsenteret pr. tilfælde.

** Reaktive, reparative ændringer omfatter reaktive ændringer forbundet med inflammation, atrofisk vaginitis, brug af stråler og IUD, såvel som typisk reparation involverende squamøse, squamøse metaplastiske eller søjleepitelceller.

En total på 8.807 tilfælde indeholdt ingen "utilfredsstillende" vurdering, hverken fra afprøvningsstederne eller referencestedet. Yderligere 239 prøver blev scored "utilfredsstillende" af enten afprøvningsstederne eller referencestedet eller begge for enten den ene eller begge præparationer. Af de 239 utilfredsstillende tilfælde, blev kun 151 bemærket for konventionelle objektglas; kun 70 for SurePath®; og 18 blev observeret for både de konventionelle og SurePath® objektglas. Alle utilfredsstillende tilfælde blev udelukket fra diagnostisk sammenligning efter The Bethesda System kategorierne, men blev tilføjet tilbage for sammenligning af præparationstilstrækkelighed.

Tabel 13 til og med 16 viser resultater for præparationstilstrækkelighed for alle undersøgelsessteder.

Tabel 13 Første split-sample undersøgelse: Resultater for præparationstilstrækkelighed

Præparationstilstrækkelighed (Antal patienter: 9.046)	PrepStain® præpareret SurePath® Slide		Konventionelt præpareret objektglas	
	N	%	N	%
Tilfredsstillende	7.607	84,1	6.468	71,5
Tilfredsstillende, men begrænset af:	1.385	15,3	2.489	27,5
Endocervical komponent fraværende	1.283	14,2	1.118	12,4
Lufttøringsartefakt	0	0	17	0,2
Tyk smear	1	< 0,1	0	0
Skjulende blod	53	0,6	121	1,3
Skjulende inflammation	102	1,1	310	3,4
Spredte pladeepitelceller	4	< 0,1	7	0,1
Cytolyse	10	0,1	11	0,1
Ingen klinisk baggrund	0	0	0	0
Ikke specificeret	60	0,7	1.018	11,3
Utilfredsstillende for evaluering:	54	0,6	89	1,0
Endocervical komponent fraværende	42	0,5	42	0,5
Lufttøringsartefakt	0	0	0	0
Tyk smear	0	0	2	< 0,1
Skjulende blod	7	0,1	6	0,1
Skjulende inflammation	6	0,1	6	0,1
Spredte pladeepitelceller	6	0,1	0	0
Cytolyse	0	0	1	< 0,1
Ingen klinisk baggrund	0	0	0	0
Ikke specificeret	37	0,4	32	0,5

Bemærk: Nogle patienter havde mere end én underkategori.

Yderligere utilfredsstillende tilfælde blev bestemt af referencepatologen, og det totale antal af utilfredsstillende resultater gengives i tabel 15. I tabellen er SAT = Tilfredsstillende, SBLB = Tilfredsstillende, men begrænset af (en specificeret tilstand) og UNSAT = Utilfredsstillende.

Tabel 14 Første split-sample undersøgelse: Resumé af resultater for præparationsutilstrækkelighed for alle kliniske afprøvningssteder

		Konventionelt præpareret objektglas			
		SAT	SBLB	UNSAT	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

UNSAT: Resultat af McNemar test X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: Resultat af McNemar test X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

Tabel 14 viser resultaterne fra en sammenligning af præparationsutilstrækkelighed for begge præpareringsmetoder. Der var signifikant færre utilfredsstillende og SBLB tilfælde med SurePath® slides sammenlignet med de konventionelle slides.

Tabel 15 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af utilfredsstillende resultater fra de kliniske afprøvningssteder og referencestedet

		Konventionelt præpareret objektglas		
		SAT	UNSAT	
PrepStain® præpareret SurePath® Slide	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Resultat af McNemar test X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

Tabel 15 viser sammenligning af tilfredsstillende og utilfredsstillende præparationer fra både afprøvningssteder og referencestedet. SurePath® objektglas viser en statistisk signifikant reduktion af utilfredsstillende tilfælde sammenlignet med konventionelle slides.

Tabel 16 Resultater af præparationstilstrækkelighed efter sted—SBLB værdier for ingen endocervical komponent (ECC)

Sted	Tilfælde	SurePath® SBLB ingen ECC'er N (%)	Konventionel SBLB ingen ECC'er N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Alle steder	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Detektion af endocervicale celler (tabel 16) varierede for de forskellige afprøvningssteder. Totalt var der en 1,8% forskel i endocervical celledetektion mellem den konventionelle Pap smear og SurePath® metoderne, hvilket er magen til tidligere undersøgelser involverende split-sample metodologien.^{16,17}

SurePath® objektglas produceret af PrepStain® systemet giver lignende resultater som konventionelle Pap smears i split-sample sammenligninger i en række patientpopulationer og laboratorieindretninger. Derudover var der signifikant færre utilfredsstillende og SBLB tilfælde med SurePath® objektglas sammenlignet med konventionelle Pap smears. SurePath® objektglas kan dermed anvendes som en erstatning for den konventionelle Pap smear til detektion af atypiske celler, præ-cancerøse læsioner, cervical cancer og alle andre cytologiske kategorier defineret af *The Bethesda System*.

EVALUERING AF SUREPATH® OBJEKTGLASPRÆPARATION MED PREPMATE® OG DE MANUELLE METODER

TriPath Imaging gennemførte en prospektiv, multi-center klinisk afprøvning for at evaluere to modifikationer af den af FDA godkendte procedure for præparation af SurePath® objektglas. Modifikationer af den godkendte proces for præparering af SurePath® objektglas var som følger:

- Tilføje af PrepMate® tilbehør (PrepMate® metoden), hvilket automatiserer de indledende manuelle trin af PrepStain® laboratorieprocessen. PrepMate® blander og fjerner automatisk prøven fra SurePath® Preservative Vials, og lagdel prøven på PrepStain® Density Reagent i et reagensglas.
- Tilføje af den manuelle metode, hvori cellesuspensionen, i stedet for at anvende PrepStain® instrumentet til cellesuspension og farvning af objektglas, bliver manuelt lagdelt på objektglasset og farvet af en laboratorietekniker.

Denne undersøgelse evaluerede over 400 tilfælde i en maskeret sammenligning af de to alternative metoder med den nuværende godkendte procedure for præparation af SurePath®

objektglas. Sammenligningen var baseret på morfologiske og kvalitetsmæssige kriterier gældende for objektglassene præpareret efter hver metode.

De primære mål for undersøgelsen var, at:

- Evaluere de morfologiske og kvalitetsmæssige aspekter ved SurePath® objektglas præpareret ved brug af PrepMate® metoden sammenlignet med objektglas præpareret i henhold til den godkendte metode ved brug af PrepStain® systemet (kaldet PrepStain® metoden).
- Evaluere de morfologiske og kvalitetsmæssige aspekter ved SurePath® objektglas præpareret ved brug af den manuelle metode sammenlignet med objektglas præpareret i henhold til den godkendte PrepStain® metode.

Yderligere mål med undersøgelsen var, at:

- Bestemme, om mængden af enighed mellem den godkendte PrepStain® metode og PrepMate® metoden var større end forventet alene ved tilfældighed.
- Bestemme, om mængden af enighed mellem den godkendte PrepStain® metode og den manuelle metode var større end forventet alene ved tilfældighed.
- Vurdere prøvetilstrækkeligheden i overensstemmelse med PrepStain® systemets standarder for præparering af SurePath® objektglas ved brug af PrepMate® metoden.
- Vurdere prøvetilstrækkeligheden i overensstemmelse med PrepStain® systemets standarder for præparering af SurePath® objektglas ved brug af den manuelle metode.

PREPMATE® TILBEHØR

PrepMate® er et tilbehør til PrepStain® systemet, der automatiserer de manuelle trin—prøveblanding og aflægning—ved PrepStain® laboratorieprocessen. PrepMate® blander grundigt, fjerner nøjagtigt prøven fra SurePath® Preservative Vials, og aflægger prøven på PrepStain® Density Reagent i et reagensglas. Et prøvestativ, der i forvejen er fyldt med prøvehætteglas, sprøjtepipetter og reagensglas (indeholdende Density vasker) er anbragt på instrumentets bakke. Stativet indeholder op til tolv hætteglas, reagensglas og sprøjtepipetter, der er arrangeret i tre rækker med fire i hver. Hætteglas, sprøjtepipetter og reagensglas er engangs. De må kun anvendes én gang for at eliminere muligheden for prøvekontaminering.

MANUEL METODE

Den manuelle metode anvender en manuel procedure til at aflægge cellesuspensionen på objektglassene og farve præparatet. Indsamling og behandling af gynækologiske prøver er identisk for både den manuelle og godkendte PrepStain® metode op til det punkt, hvor PrepStain® instrumentet anvendes.

Ved PrepStain® metoden bliver centrifugerede cellebrikker placeret direkte på PrepStain® instrumentet for automatisk behandling for at frembringe farvede SurePath® objektglas.

Ved den manuelle metode tilsættes deioniseret vand til den centrifugerede cellebric fulgt af vortexing for at resuspendere og randomisere prøven. Prøven overføres til et bundfældningskammer monteret på et SurePath® PreCoat objektglas. Efter at prøven er bundfældet på objektglasset, farves prøven ved en batch Papanicolaou farvningsprocedure.

OBJEKTGLASREGNSKAB

Tabel 17 viser objektglasregnskabet for den kliniske undersøgelses objektglas. Det er vigtigt at bemærke, at undersøgelsessættet bestod af **tre objektglas pr. tilfælde**.

Tabel 17 Objektglasregnskab

	Tilfælde	Objektglas
Totale antal indgået i undersøgelsen	471	1.413
Totale antal udelukket fra analyse	−68	−204
Ufuldstændig dokumentation	−39	−117
Objektglas præpareret ukorrekt	−24	−72
Andre udelukkelsesgrunde *	−5	−15
Totale antal inkluderet i analysen	403	1.209

* Manglende prøver, dobbelte patientnumre, etc.

POPULATIONSDEMOGRAFI

Tabel 18 angiver demografiske data for patientalder for alle tilfælde inkluderet i undersøgelsespopulationen.

Tabel 18 Patientdemografi

Alder	Antal tilfælde
19 eller yngre	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

Tabel 19 angiver nuværende klinisk information, og tabel 20 angiver klinisk baggrund for alle tilfælde inkluderet i undersøgelsespopulationen. Bemærk, at valget af mere end et emne var tilladt, så total tælling af tilfælde korrelerer måske ikke med det totale antal tilfælde i undersøgelsespopulationen.

Tabel 19 Nuværende klinisk information

Klinisk information	Antal tilfælde
Cyklisk	241
Uregelmæssig cyklus	69
Hysterektomi	16
Gravid	9
Post abort	0
Post natal	9
Post menopausal	58
Peri-menopausal	1
Immundeprimeret	0
Abnorm GYN præsentation	0
Vaginalt udflåd	137
Østrogen substitutionsbehandling	19
IUD	2
Orale antikonceptiver/implantat	20
Ingen børnebegrænsning	181
Information ikke tilgængelig	22

Tabel 20 Klinisk baggrund

Baggrund	Antal tilfælde
Tidligere abnorm cytologi	13
Baggrund med abnorm blødning	36
Biopsi	3
Baggrund med cancer	1
Kemoterapi	0
Strålebehandling	0
Kolposkopi	9
HIV/AIDS	0
HPV (vortevirus)	0
Herpes	1
Baggrund med BTL*	1
Baggrund med PID**	57
Ingen noteret	363

- * Bilateral tubal ligering
* Pelvisk inflammatorisk lidelse

UNDERSØGELSESRISULTATER

Formålet med denne undersøgelse var at fastslå, at SurePath® objektglas præpareret med brug af PrepMate® metoden og manuel metode procedurer havde en favorabel sammenligning med dem, der var præpareret ved brug af den godkendte PrepStain® metode. De kliniske data viser, at objektglas præpareret efter PrepMate® og manuelle metoder er sammenlignelige i morfologi og kvalitet med dem, der er præpareret efter den godkendte PrepStain® metode.

De kliniske data viser også, at den diagnostiske ydeevne er den samme for PrepMate® og manuelle metoder ved sammenligning med den godkendte PrepStain® metode. Desuden adskiller tilstrækkeligheden af objektglas præpareret med PrepMate® og manuelle metoder sig fra dem, der er præpareret med den godkendte PrepStain® metode. Disse fund understøtter sammenligneligheden af PrepMate® og manuelle metoder med den godkendte PrepStain® metode.

MORFOLOGI OG KVALITET AF PRØVEN

Tabel 21 viser resultaterne for de primære mål. Acceptabiliteten af objektglas præpareret med hver metode blev evalueret i henhold til kriterierne for morfologi og kvalitet vist i tabellen. For hvert kriterie blev delen af acceptable objektglas beregnet sammen med det tilhørende eksakte 95% konfidensinterval.

Tabel 21 Sammenligning af forhold og konfidensintervaller (CI) for acceptabilitetskriterier

Objektglas-præparationsmetode							
		PrepStain®		PrepMate®		Manual MethodManuel metode	
		Forhold (n/N)	Eksakt 95% CI	Forhold (n/N)	Eksakt 95% CI	Forhold (n/N)	Eksakt 95% CI
Acceptability Criteria	Farvning	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Klarhed	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nuklear	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Cytologi	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Klynger	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Cellularitet	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

PrepMate® og den manuelle metodes acceptabilitetsforhold er næsten altid ens eller større end dem for PrepStain® metoden. Desuden overlapper de 95% eksakte konfidensintervaller for PrepMate® og manuelle metoder væsentligt dem fra den godkendte PrepStain® metode for hvert kriterie. Dette indebærer, at objektglas præpareret ved PrepMate® og manuelle metoder er af sammenlignelig morfologi og kvalitet med dem, der er præpareret ved den godkendte PrepStain® metode. Præparatkvaliteten er derfor den samme for den godkendte metode og de to testmetoder.

DIAGNOSTISK OVERENSSTEMMELSE

Denne analyse sammenligner diagnoserne på objektglas præpareret efter hver metode. Da disse data er afledte fra split-samples, er diagnosematricerne, der vises i tabel 22 og 23, baseret på parrede prøver med hver af testslidepræparationsmetoder (PrepMate® og manuelle metode) sammenlignet med den godkendte PrepStain® metode. Ideelt vil diagnosen, der fås fra objektglas præpareret ved de to metoder, være den samme. Dette er repræsenteret ved antallet af objektglas med identiske diagnoser, hvilket kommer frem på hoveddiagonalen i hver tabel.

Det første mål af overensstemmelse er andelen af objektglas på hoveddiagonalen og de korresponderende eksakte 95% konfidensintervaller. Det andet mål af overensstemmelse fås fra kappa-statistikken, der blev udregnet for hver sammenligning og testet. Testen afgør, om størrelsen af overensstemmelse mellem de to metoder er større end forventet alene ved held. Da observationerne er ordnede, er det mere vigtigt at have observationer, der ligger på eller nær hoveddiagonalen. Den vægtede kappa-statistik giver mere vægt til observationer, der ligger på eller nær hoveddiagonalen i tabellerne.

SAMMENLIGNING AF GODKENDTE PREPSTAIN® OG PREPMATE® METODER

I tabel 22 er antallet af objektglas på hoveddiagonalen 367 (2+334+8+6+5+11+1), og delen af objektglas på hoveddiagonalen er 0,9107 (367/403) med eksakt 95% konfidensgrænser på 0,8785 til 0,9366.

Hvis utilfredsstillende objektglas udelukkes fra tabellen ved at slette den første række og første kolonne, er der 397 objektglas tilbage. Delen af objektglas på hoveddiagonalen er 0,9194 (365/397) med 95% konfidensgrænser på 0,8881 til 0,9442.

Resultaterne vist i tabel 22 indikerer, at den godkendte PrepStain® metode og PrepMate® metoden har en stor del objektglas med diagnostisk overensstemmelse, som indikeret ved delen af objektglas på hoveddiagonalen i tabellen. Derudover indikerer den vægtede kappa-analyse, at overensstemmelsen var langt større, end hvad der kunne skyldes held alene.

Tabel 22 Krydstabulering af diagnoser med PrepStain® og PrepMate® metoderne

		PrepStain [®] metode diagnose									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
PrepMate [®] metode diagnose	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

SAMMENLIGNING AF GODKENDTE PREPSTAIN® OG MANUELLE METODER

I tabel 23 er antallet af objektglas på hoveddiagonalen 353 (3+315+6+10+7+11+1). Delen af objektglas på hoveddiagonalen er 0,8759 (353/403). De eksakte binomiale 95% konfidensgrænser for denne del er 0,8397 til 0,9065.

Hvis utilfredsstillende objektglas udelukkes fra tabellen ved at slette den første række og første kolonne, er der 398 objektglas tilbage. Delen af objektglas på hoveddiagonalen er 0,8794 (350/398) med 95% konfidensgrænser på 0,8433 til 0,9097. Resultaterne vist i tabel 23 indikerer, at den godkendte PrepStain® metode og den manuelle metode har en stor andel objektglas med diagnostisk overensstemmelse, som indikeret ved andelen af objektglas på hoveddiagonalen i tabellen. Derudover indikerer den vægtede kappa-analyse, at overensstemmelsen var langt større, end hvad der kunne skyldes held alene. Den diagnostiske ydeevne er derfor den samme for den godkendte metode og de to testmetoder.

Tabel 23 Krydstabulering af diagnoser ved PrepStain® og manuelle metoder

		PrepStain® metode diagnose									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Manuel metode diagnose	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

OBJEKTGLASTILSTRÆKKELIGHED

Objektglastilstrækkelighed blev vurderet for hver af præparationsmetoderne. Dataene blev analyseret vha. en tosidet McNemar test.¹⁸

Tabel 24 viser tilstrækkelighedsresultater ved sammenligning af den godkendte PrepStain® metode og PrepMate® metoden.

Tabel 24 Tilstrækkelighedsresultater for PrepMate® og PrepStain® metodens objektglas

		PrepStain® metodens resultater	
		SAT eller SBLB	UNSAT
PrepMate metodens resultater	SAT eller SBLB	398	3
	UNSAT	0	2
		398	5

Tabel 25 viser tilstrækkelighedsresultaterne ved sammenligning af den godkendte PrepStain® metode med den manuelle metode.

Tabel 25 Tilstrækkelighedsresultater for manuelle og PrepStain® metodens objektglas

		PrepStain® metodens resultater	
		SAT eller SBLB	UNSAT
Den manuelle metodes resultater	SAT eller SBLB	398	2
	UNSAT	0	3
		398	5

Disse to sammenligninger viser, at PrepMate® og den manuelle metode ikke adskiller sig fra den godkendte PrepStain® metode med hensyn til objektglastilstrækkelighed.

DIREKTE-TIL-HÆTTEGLAS UNDERSØGELSE

Efter den indledende FDA godkendelse af PrepStain® systemet, gennemførte TriPath Imaging en stor, multi-center undersøgelse af PrepStain® systemet, når det blev anvendt efter hensigten med direkte-til-hætteglas prøver. De foregående kliniske undersøgelser anvendte en split-sample metode, hvor prøven først blev anvendt til at skabe et konventionelt Pap smear objektglas, og resten af prøven blev anbragt i SurePath® indsamlingsvæske og behandlet af PrepStain® systemet til at lave et SurePath® objektglas. Det er vel fastslået, at split-sample designs undervurderer testens sande ydeevne, da den er præpareret ud fra tiloversblevet cellulært materiale¹².

Denne undersøgelse sammenlignede ydeevnen af SurePath® objektglas produceret fra direkte-til-hætteglas prøver med konventionelle Pap smears. De opnåede resultater med SurePath® blev sammenlignet med resultater opnået fra en historisk kohorte af konventionelle Pap smears. Specifikt evaluerede denne undersøgelse, om SurePath® objektglas forbedrede detektionen af high-grade skålede, intraepitiale læsioner (HSIL), adenocarcinoma in-situ og cancer (HSIL+). Alle tilgængelige biopsidata blev indsamlet for begge objektglaspopulationer.

SurePath® populationen bestod af 58.580 objektglas indsamlet prospektivt fra 57 klinikker, der var gået næsten 100% over fra tagning af konventionel Pap smear til SurePath® prøvetagning. Prøverne, der var indsamlede på disse klinikker, blev sendt til tre kliniske undersøgelsessteder til behandling.

Den konventionelle population bestod af 58.988 objektglas fra de samme klinikker som SurePath® objektglas. Denne historiske population blev indsamlet begyndende med de nyeste objektglas, inden klinikkerne gik over til SurePath®, og derefter gående tilbage i tiden, indtil de konventionelle og SurePath® objektglaspopulationerne på hvert klinisk undersøgelsessted var cirka lige i antal.

Resultaterne fra denne undersøgelse viste en detektionsrate på 405/58.580 for SurePath® objektglas sammenlignet med 248/58.988 for de konventionelle objektglas, resulterende i detektionsrater på henholdsvis 0,691% og 0,420% (se tabel 26). For disse kliniske undersøgelsessteder og disse undersøgelsespopulationer indikerer dette en 64,4% (p<0,00001) øgning i detektion af HSIL+ læsioner for SurePath® objektglas.

Tabel 26 Sammenligning af detektionsrater efter site

HSIL+

Site	Konventionel			SurePath®		
	Total	HSIL+	Procent (%)	Total	HSIL+	Procent (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Total	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Site	Konventionel			SurePath®		
	Total	LSIL+	Procent (%)	Total	LSIL+	Procent (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Total	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Site	Konventionel			SurePath®		
	Total	ASCUS+	Procent (%)	Total	ASCUS+	Procent (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Total	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Utilfredsstillende

Site	Konventionel			SurePath®		
	Total	UNSAT+	Procent (%)	Total	UNSAT+	Procent (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Total	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Bemærk: Site mellem site variationer i ydeevne forventes. Hvert laboratorium skal nøje overvåge kvaliteten af deres arbejde

PROCEDURE

Komplette procedurer for præparation af SurePath® objektglas gives i brugervejledningen for PrepStain® systemet.

BIBLIOGRAFI

- Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
- Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
- Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
- Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
- Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
- Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
- McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119
- Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
- Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29
- Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
- Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
- Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
- McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12: 153-7
- Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
- College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
- Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
- Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
- Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
- Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NAVN OG FORRETNINGSDRESSE

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
PrepStain® information: 1-800-426-2176 eller 336-222-9707
Fax: 336-222-8819.
U.S. patentnumre: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Canadiske patentnumre: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Japanske patentnumre: 2837076, 2781513.
Europæiske patentnumre: 0590504, 0590447, 0590506B.
Andre U.S. og fremmede indleverede patenter.

EC|REP

Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

FINALIDADE

O sistema PrepStain® (anteriormente designado AutoCyte® PREP System) é um processo de preparação das células em camada fina numa base líquida. O sistema PrepStain® produz lâminas SurePath® que se destinam a substituir os esfregaços ginecológicos Pap convencionais/citologias convencionais. As lâminas SurePath® (anteriormente lâminas AutoCyte® PREP) destinam-se a utilização no rastreio e detecção de cancro do colo do útero, lesões pré-cancerosas, células atípicas e todas as outras categorias citológicas definidas no *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses* (Relatórios de diagnóstico citológico cervico/vaginal).^{1, 19}

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

O sistema PrepStain® converte uma suspensão líquida de uma amostra de células do colo do útero numa camada fina e homogênea de células, discretamente submetida a coloração, mantendo as células agrupadas para diagnóstico.²⁻⁹ O processo inclui a conservação das células, a amostragem, o enriquecimento do material de diagnóstico, a pipetagem, a sedimentação, a coloração e a protecção com lamela de modo a criar uma lâmina SurePath® para utilização no rastreio citológico de rotina e classificação em categorias, conforme define o Bethesda System.¹ A lâmina SurePath® apresenta uma população bem conservada de células submetidas a coloração, dispostas num círculo com 13 mm de diâmetro. O artefacto da secagem ao ar, os detritos e o material celular sobreposto ou oculto são factores que em grande parte ficam eliminados. A quantidade de leucócitos é significativamente reduzida, permitindo uma visualização mais fácil das células epiteliais, das células relevantes para efeitos de diagnóstico e dos organismos infecciosos.

O processo SurePath® inicia-se com pessoal médico qualificado a efetuar uma colheita de amostra ginecológica utilizando um dispositivo de amostragem com forma de escova (ex: Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Holanda) ou uma escova/espátula plástica endocervical combinados (ex: Cytobrush® Plus GT e espátula Pap Perfect®, Medscand (EUA) Inc., Trumbull, CT) com cabeça(s) destacável(eis) Em vez de esfregar as células colhidas pelos dispositivos de amostragem numa lâmina de vidro, as cabeças das escovas do dispositivo de amostragem destacam-se da pega são colocadas num frasco contendo SurePath® Preservative Fluid. O frasco é tapado, etiquetado e enviado com os documentos apropriados para processamento no laboratório. As cabeças dos dispositivos de amostragem nunca são removidas do frasco de conservante que contém a amostra colhida.

No laboratório, a amostra preservada é misturada por meio de vórtex, sendo, em seguida, transferida para o PrepStain® Density Reagent. Uma fase de enriquecimento, que consiste numa sedimentação centrífuga através do Reagente de densidade, remove parcialmente da amostra os detritos que não servem para o diagnóstico bem como o excesso de células inflamatórias. Após a centrifugação, as células agrupadas são novamente suspensas, misturadas e transferidas para uma câmara de incubação PrepStain® Settling Chamber montada numa lâmina previamente revestida SurePath® PreCoat. Estas são sedimentadas pelo efeito da gravidade, sendo, em seguida, submetidas a coloração utilizando um processo de coloração de Papanicolaou modificado. A lâmina é limpa com xilol ou um substituto do xilol e protegida com lamela. As células, dispostas num círculo com 13 mm de diâmetro são examinadas ao microscópio por técnicos de citologia e patologistas experientes que têm acesso a outras informações relevantes dos antecedentes clínicos do doente.

LIMITAÇÕES

- As amostras ginecológicas para preparação utilizando o sistema PrepStain® devem ser colhidas utilizando um dispositivo tipo escova/espátula plástica endocervical em combinação com cabeças destacáveis de acordo com o procedimento de colheita normal prevista pelo fabricante. Espátulas de madeira não devem ser utilizadas com o PrepStain® System. Combinações de escova/espátula plástica endocervical que não sejam descartáveis não devem ser utilizadas com o PrepStain® System
- A formação por pessoas autorizadas é um pré-requisito para a produção e avaliação das lâminas SurePath®. Os técnicos de citologia e patologistas receberão formação na avaliação morfológica das lâminas SurePath®. A formação incluirá um exame de competência. Aos laboratórios clientes será facultada a utilização de conjuntos de teste e lâminas de instrução. A TriPath Imaging®, Inc. também fornecerá assistência na preparação de lâminas para efeitos de formação provenientes das populações de doentes próprias de cada um dos clientes.
- O correcto funcionamento do sistema PrepStain® exige a utilização apenas de material fornecido pela TriPath Imaging, ou recomendado pela TriPath Imaging, para utilização com o sistema PrepStain®. O material utilizado deve ser eliminado correctamente em conformidade com as regulamentações institucionais e governamentais.
- Todo o material destina-se a um única utilização e não pode ser reutilizado.

Reagentes

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Somente para utilização em laboratório

Avisos

SurePath® Preservative Fluid Contém uma solução diluída de etanol desnaturado. A mistura contém pequenas quantidades de metanol e isopropanol. Não ingerir.



PrepStain® Density Reagent contém azida de sódio. Não ingerir. A azida de sódio pode reagir com chumbo ou chumbos de cobre formando azidas de metal altamente explosivas. Adicionar bastante água evitando a formação de azidas, quando eliminar o reagente. Para informação adicional, por favor consulte a publicação DHHS (NIOSH) nº 78-127 – 13, efectuado pelo Centers for Disease Control. Consulte página da web: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG combinação de corantes citológicos contendo álcool. Tóxico quando ingerido. Não respire os vapores. Utilize ventilação adequada. Evitar contacto com a pele e olhos. Altamente inflamável.

PRECAUÇÕES

- Devem respeitar-se as boas práticas laboratoriais, devendo todos os procedimentos para utilização do sistema PrepStain® ser rigorosamente cumpridos.
- Os reagentes devem ser conservados à temperatura ambiente (15°C a 30°C) e utilizados antes do final dos respectivos prazos de validade, de modo a garantir um correcto desempenho. As condições de conservação para o SurePath® Preservative Fluid sem amostras citológicas é de 36 meses, no máximo, a contar da data de fabrico à temperatura ambiente (15°C a 30°C). O limite de conservação do SurePath® Preservative Fluid com amostras citológicas é de 6 meses a temperaturas refrigeradas (2°C a 10°C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15°C a 30°C).
- Evite salpicos ou a geração de aerossóis. Os operadores devem utilizar a protecção manual, ocular e de vestuário apropriada.
- O SurePath® Preservative Fluid foi testado em relação à sua eficácia antimicrobiana contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger*, tendo sido considerado eficaz. As amostras de SurePath® Preservative inoculadas com 10⁶ CFU/ml de cada espécie não produziram qualquer crescimento após 14 dias (28 dias para *Mycobacterium tuberculosis*) de incubação em condições normais. Contudo, as precauções universais para o manuseamento seguro de fluidos biológicos devem ser sempre respeitadas.
- O não cumprimento dos procedimentos recomendados conforme descrito no Manual do Utilizador do Sistema PrepStain® pode comprometer o desempenho.

MATERIAIS NECESSÁRIOS

Para informações completas relativas aos reagentes, componentes e acessórios, consulte o Manual do Utilizador do Sistema PrepStain®. Nem todos os materiais indicados a seguir são necessários para a preparação manual das lâminas SurePath® (sem utilizar o instrumento PrepStain®).

Materiais fornecidos

- Instrumento PrepStain®
- Frasco de colheita SurePath® Preservative Fluid (inclui SurePath® Preservative Fluid)
- Dispositivo(s) de amostra(s) cervical com cabeça(s) destacável(eis)
- PrepStain® Density Reagent
- PrepStain® Syringing Pipettes (pipetas com efeito de seringa)
- PrepStain® Settling Chambers
- Kit de coloração para citologia
- Lâminas previamente revestidas SurePath® PreCoat
- Tubos de centrifugação
- Suportes para lâminas e tubos
- Pontas de aspiração e transferência descartáveis

Materiais necessários mas não fornecidos

- Misturador de vórtex
- Água desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol e álcool com grau de reagente
- Agente de limpeza, meio de montagem e lamelas de protecção de vidro

Conservação

As condições de conservação para o SurePath® Preservative Fluid sem amostras citológicas é de 36 meses, no máximo, a contar da data de fabrico à temperatura ambiente (15°C a 30°C).

O limite de conservação do SurePath® Preservative Fluid com amostras citológicas é de 6 meses a temperaturas refrigeradas (2°C a 10°C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15°C a 30°C).

PREPARAÇÃO E INTERPRETAÇÃO DE DIAGNÓSTICO ADEQUADA

Após a formação de utilizadores autorizada pela TriPath Imaging sobre o sistema PrepStain® e lâminas SurePath®, aplicam-se às lâminas SurePath® os critérios de diagnóstico citológico do Bethesda System actualmente utilizados nos laboratórios de citologia para os Pap smears convencionais.¹ Novas recomendações no Bethesda 2001 Reporting System referentes a preparação em base de líquidos e definição de como determinar a celularidade adequada específica para estes preparados.

Na ausência de células anómalas, uma preparação é considerada insatisfatória no caso da presença de uma ou várias das seguintes condições:

- (1) Números inadequados de células de diagnóstico (menos de 5.000 células epiteliais escamadas por preparação). Seguem-se os procedimentos recomendados para o cálculo da contagem de células epiteliais pavimentosas bem conservadas nas lâminas SurePath®:
- Para cada modelo de microscópio utilizado no rastreio, examine o manual do microscópio do fabricante ou contacte o fabricante do microscópio para determinar a área do campo de visão utilizando a ocular 10x e a objectiva 40x. Em alternativa, calcule a Área de campo utilizando um hemocítmetro ou escala de medição de lâmina microscópica semelhante (Área do campo = πr^2 , em que r é o raio do campo).
 - O número médio mínimo de células por campo da objectiva 40x deve ser determinado dividindo a área de deposição aproximada de células de 130 mm² correspondente à lâmina SurePath® pela área do campo para o microscópio específico. O número resultante é então dividido pelo mínimo de 5000 células. O número resultante é o número de adequação médio mínimo recomendado para as células epiteliais num campo de visão de objectiva de 40x. Registe este número e guarde-o para utilização como referência de rotina pelo técnico de citologia. As recomendações no Bethesda 2001 indicam o número aproximado de células por campo para preparação de 13mm.
 - Um mínimo de 3 campos devem ser contados horizontalmente ou verticalmente ao longo do centro do diâmetro da preparação.
 - Como meio prático de avaliar a densidade celular, pode-se utilizar a avaliação macroscópica da densidade visual da preparação submetida a coloração para verificar a adequação dos processamentos de produção de preparações. Não existe, no entanto, qualquer substituto para a avaliação microscópica primária por parte do técnico de citologia durante o processo de rastreio.

- (2) 75% por cento ou mais dos componentes celulares são ocultados por inflamação, sangue, bactérias, muco ou artefacto, impossibilitando a interpretação citológica da lâmina. Quaisquer observações anómalas ou duvidosas que surjam no rastreio devem ser comunicadas a um patologista para análise e diagnóstico. O patologista deve tomar nota de quaisquer alterações morfológicas celulares diagnosticamente significativas

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO: RELATÓRIO DE ESTUDOS CLÍNICOS
PRIMEIRO ESTUDO DE AMOSTRA DIVIDIDA

A TriPath Imaging realizou uma investigação clínica de prospecção, oculta de amostra dividida com correspondência de pares em vários centros para comparar os resultados de diagnóstico de lâminas SurePath® produzidas pelo sistema PrepStain® com Citologias Pap preparados da forma convencional. O objectivo do estudo consistia em avaliar o desempenho da SurePath® relativamente à convencional quanto à detecção de cancro do colo do útero, lesões pré-cancerosas e células atípica em várias populações de doentes e definições laboratoriais. A adequação também foi avaliada para ambas as preparações.

Seguindo as recomendações do documento “Points to Consider” da FDA relativamente a Cervical Cytology Devices¹⁰ (Dispositivos de citologia do colo do útero), cada Citologia convencional foi preparada primeiro e, em seguida, a amostra residual remanescente no dispositivo de amostragem em forma de escova foi depositada num Frasco de colheita de SurePath® Preservative Fluid.

Após transporte para o laboratório, cada suspensão de células conservada foi processada de acordo com o protocolo do sistema PrepStain®. Fez-se o rastreio manual da lâmina SurePath® resultante e da lâmina da Citologia convencional correspondente, tendo o diagnóstico sido feito independentemente utilizando categorias de diagnóstico consistentes com o The Bethesda System. Em cada um dos centros, um patologista avaliou todas as lâminas anormais.

Em conformidade com o método descrito por Shatzkin¹¹, este estudo utilizou um patologista de referência designado, que analisou de uma forma oculta de modo a encontrar o “verdadeiro” diagnóstico para cada um dos casos, todos os casos anormais e que apresentavam discrepâncias, os casos de regeneração e 5% dos casos normais provenientes de todos os centros.

CARACTERÍSTICAS DAS DOENTES

As idades das mulheres neste estudo situaram-se entre os 16 e os 87 anos de idade, sendo que 772 das mesmas se encontravam em período pós-menopausa. Das 8.807 doentes representadas neste estudo, 1.059 apresentavam antecedentes de Citologia convencional – Pap smears anormais. A totalidade da população de doentes estudada era composta pelos seguintes grupos raciais: Raça branca (44%), negra (30%), asiática (12%), hispânica (10%), indígenas americanos (3%) e outras (1%).

Foram excluídas participantes devido a documentos incorrectos, idade inferior a 16 anos, doentes com histerectomias bem como amostras citologicamente insatisfatórias e inadequadas. Fez-se um esforço para incluir o maior número possível de casos de cancro do colo do útero e doença pré-cancerosa, acedendo a doentes de alto risco, doentes rastreadas pouco frequentemente e doentes indicadas pelo médico para rastreio.

De um total de 10.335 casos, 9.046 foram aceites e avaliados em oito centros de estudo diferentes. Desses 9.046 casos, 8.807 satisfaziam os requisitos do The Bethesda System relativos à adequação da preparação e estavam disponíveis para diagnóstico completo das duas preparações.

RESULTADOS DO ESTUDO

O objectivo do ensaio clínico consistia em comparar o desempenho das lâminas SurePath® produzidas pelo sistema PrepStain® com as citologias preparadas da forma convencional. As lâminas dos dois tipos de preparação foram classificadas de acordo com os critérios do The Bethesda System. O protocolo do estudo era tendencioso a favor citologia convencional na medida em que este tipo de preparação foi sempre preparada primeiro, limitando portanto a lâmina SurePath® ao material residual remanescente no dispositivo em forma de escova (a parte da amostra que geralmente não seria aproveitada).¹² A finalidade do ensaio SurePath® é uma aplicação directamente para o frasco, em que todas as células colhidas estarão disponíveis para o sistema PrepStain®.

Para comparar as sensibilidades das lâminas SurePath® e da citologia convencional quando feita a leitura manual, o nível de anormalidade para os casos foi determinado pelo patologista de referência e comparado com os diagnósticos feitos pelos centros de estudo. O diagnóstico de referência baseava-se no diagnóstico mais anormal de entre as duas preparações de lâminas feito pelo patologista de referência independente. Este resultado foi utilizado como o diagnóstico “verdadeiro” ou o valor de referência para a comparação dos resultados dos centros utilizando a preparação de lâminas SurePath® preparadas pelo sistema PrepStain® e a preparação da citologia convencional. A hipótese nula de que a sensibilidade dos dois métodos de preparação de lâminas fosse equivalente foi testada utilizando o teste do qui-quadrado de McNemar para dados emparelhados.¹³ Neste teste estatístico, foram comparados os resultados discrepantes para os dois métodos de preparação.

O Quadro 1 apresenta uma comparação directa dos resultados de todos os centros relativamente às lâminas SurePath® e às lâminas preparadas segundo o método convencional para as categorias de tratamento de diagnóstico dentro dos limites normais (WNL), células pavimentosas atípicas de significado indeterminado/células glandulares atípicas de significado indeterminado (ASCUS/AGUS), lesão intraepitelial pavimentosa de baixo grau (LSIL), lesão intraepitelial pavimentosa de alto grau (HSIL) e cancro (CA).

Quadro 1 Primeiro estudo de amostra dividida: 8.807 Amostras correspondentes — Comparação dos resultados dos centros — Nenhum patologista de referência

Resultados por centro								
Centro N°	Tipo de lâmina	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
Total	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®
CN = Convencional

O Quadro 2 apresenta uma comparação directa dos resultados de todos os centros para o método de preparação SurePath® relativamente à preparação da citologia convencional em todas as categorias de tratamento de diagnóstico.

Quadro 2 Primeiro estudo de amostra dividida: 8.807 Amostras correspondentes — Comparação dos resultados de todos os centros — Nenhum patologista de referência

		Pap Smear preparado da forma convencional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	WNL	7,290	361	20	63	24	1	7,759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7,768	531	39	271	177	21	8,807

Nenhuns resultados do patologista de referência independente estão reflectidos no Quadro 1 ou no Quadro 2.

Quadro 3 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como ASCUS/AGUS — Análise de erro discordante

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	113	205	318
	Erro	180	229	409
		293	434	727

Êxito = ASCUS/AGUS

Erro = WNL e Reactiva/Regenerativa

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 1,62, p = 0,2026$

Erros Método Convencional: 205

Erros SurePath®: 180

O Quadro 3 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como ASCUS ou AGUS. Esta avaliação permite a análise de erros discordantes para avaliar a sensibilidade dos métodos na concepção de estudo de amostra dividida. Os erros incluem WNL e Reactiva/Regenerativa. Uma vez que o valor p determinado no teste de McNemar foi superior a 0,05, os resultados obtidos com SurePath® e com o Pap smear convencional foram equivalentes.

Quadro 4 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como LSIL — Análise de erro discordante

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	140	63	203
	Erro	54	86	140
		194	149	343

Êxito = LSIL

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,69, p = 0,4054$

Erros Método Convencional: 63

Erros SurePath®: 54

O Quadro 4 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como LSIL. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS. Tal como com ASCUS/AGUS, a sensibilidade dos dois métodos no estudo de amostra dividida foi estatisticamente equivalente, com um valor p superior a 0,05.

Quadro 5 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL + Análise de erro discordante (LSIL não é um erro)

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	160	28	188
	Erro	36	38	74
		196	66	262

Êxito = HSIL+

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 1,00, p = 0,3173$

Erros Método Convencional: 28

Erros SurePath®: 36

O Quadro 5 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Nesta comparação, LSIL não foi considerada como um erro mas sim como uma discrepância.^{10,14,15} Erro inclui WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS. A análise de sensibilidade dos erros discordantes demonstrou uma equivalência estatística dos métodos no estudo de amostra dividida.

Quadro 6 Primeiro estudo de amostra dividida: Análise de erro discordante para casos de cancro (HSIL não é um erro; LSIL é considerado um erro)

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	19	2	21
	Erro	5	1	6
		24	3	27

Êxito = Cancro

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 1,645, p = 0,1980$

Erros Método Convencional: 2

Erros SurePath®: 5

O Quadro 6 apresenta os resultados (de todos os centros) para os casos considerados como cancro pelo método de referência. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. A análise de sensibilidade dos erros discordantes demonstrou uma equivalência estatística dos métodos. Estes 27 casos de cancro foram incluídos no estudo de reavaliação. Estes dados podem ser observado no Quadro 9.

Quadro 7 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL+ Análise de erro discordante (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	94	33	127
	Erro	67	68	135
		161	101	262

Êxito = (HSIL+)

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 11,56, p = 0,0007$

Erros Método Convencional: 33

Erros SurePath®: 67

O Quadro 7 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Embora não seja consistente com o protocolo original do estudo¹⁰, foi levada a cabo uma comparação estatística dos métodos em que LSIL foi considerado um erro de diagnóstico relativamente a um caso determinado como HSIL+ pelo único patologista de referência independente. Nesta comparação estatística de sensibilidades de diagnóstico, quando se considera que LSIL é um erro, e não uma discrepância pouco significativa, as lâminas SurePath® preparadas segundo o PrepStain® não seriam equivalentes ao Pap smear preparado da forma convencional no que se refere à detecção da anomalia HSIL+ no estudo de amostra dividida.

REAVALIAÇÃO OCULTA DOS CASOS DE HSIL+

Foi realizada uma nova avaliação com o objectivo de determinar se os resultados foram afectados pela qualidade da preparação ou por uma questão de subjectividade na interpretação. De modo a avaliar os 262 casos diagnosticados como HSIL+ no estudo original (Quadro 7), foi realizada uma avaliação adicional após a implementação de um novo programa de formação para profissionais de citologia destinado a realçar uma interpretação consistente entre os grupos de diagnóstico do *The Bethesda System*. Estes casos de HSIL+ foram re-ocultados como parte de uma reavaliação composta por um total de 2.438 amostras preparadas utilizando o mesmo protocolo de amostra dividida. Os resultados dos centros de estudo para as duas preparações foram então comparados a um novo valor de referência que exigia o acordo de pelo menos dois de entre três patologistas de referência independentes quanto ao diagnóstico citológico mais anormal.

No processo de referência para a reavaliação, as duas preparações de lâminas dos casos discordantes (lâminas SurePath® preparadas segundo o sistema PrepStain® e lâminas preparadas da forma convencional) foram novamente analisadas por um segundo técnico de citologia, tendo sido acrescentadas anomalias recém-identificadas às que já tinham sido encontradas no rastreio inicial. Os três patologistas de citologia de referência avaliaram então todos os casos discordantes utilizando um protocolo oculto. Este método de referência mais rigoroso reduziu o número de casos de referência de HSIL+ de 262 no estudo original para 209 na reavaliação. A diferença de 53 casos pode ser explicada do seguinte modo:

48 casos foram diagnosticados pelo método de referência mais rigoroso como LSIL ou menos grave; a adequação de 3 dos casos foi considerada insatisfatória após reavaliação; e os 2 casos restantes não se encontravam disponíveis para avaliação no estudo de reavaliação oculto.

Quadro 8 Estudo de reavaliação: Análise de erro discordante para 209 casos de HSIL+ no estudo original reavaliados pelos critérios de referência mais rigorosos com a participação de três patologistas de referência independentes

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	153	26	179
	Erro	24	6	30
		177	32	209

Êxito = HSIL+

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa. ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,02, p = 0,8875$

Erros Método Convencional: 26

Erros SurePath®: 24

O Quadro 8 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Nesta comparação, LSIL foi considerada um erro de diagnóstico relativamente a um caso determinado como HSIL+ pelo patologista de referência independente. A comparação das sensibilidade de diagnóstico demonstrou uma equivalência estatística entre os dois métodos.

Quadro 9 Estudo de reavaliação: Análise de erro discordante para casos de cancro (HSIL não é um erro; LSIL é considerado um erro)

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	32	3	35
	Erro	3	0	3
		35	3	38

Êxito = Cancro

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00, p = 1,0000$

Erros Método Convencional: 3

Erros SurePath®: 3

O Quadro 9 apresenta os resultados para os casos considerados como cancro pelo novo método de referência (todos os centros). Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Um dos erros resultou de uma interpretação como LSIL. Todos os outros erros envolviam a interpretação das lâminas como sendo ACUS/AGUS ou WNL. A análise de sensibilidade dos erros discordantes demonstrou uma equivalência estatística dos métodos.

A reavaliação oculta continha 2097 novos casos que foram utilizados para re-ocultar as amostras HSIL+ originais. A análise e comparação das preparações destes novos casos segue no Quadro 10.

Quadro 10 Estudo de reavaliação: Comparação directa de 2097 resultados dos centros — Nenhum patologista de referência

		Pap Smear preparado da forma convencional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	WNL	1,561	128	0	47	30	0	1,766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1,710	203	3	104	70	7	2,097

Dos 2097 novos casos descritos acima, 77 foram diagnosticados como HSIL+ pelos patologistas de referência. O Quadro 11 apresenta a análise da sensibilidade para esses 77 casos de HSIL+.

Quadro 11 Estudo de reavaliação: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL+ Análise de erro discordante (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		Êxito	Erro	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	Êxito	25	21	46
	Erro	21	10	31
		46	31	77

Êxito = HSIL+

Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa. ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00, p = 1,0000$

Erros Método Convencional: 21

Erros SurePath®: 21

A análise dos erros discordantes no Quadro 11 demonstrou um número igual de erros de falha de detecção de HSIL+ para ambos os métodos de preparação. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. O teste estatístico demonstrou equivalência entre os dois métodos na concepção de amostra dividida mesmo quando a LSIL foi considerada um erro relativamente ao valor de referência da HSIL+.

O Quadro 12 resume os diagnósticos descritivos dos resultados benignos de todos os centros.

Quadro 12 Primeiro estudo de amostra dividida: Resumo de alterações celulares benignas

Diagnóstico descritivo (Nº de doentes: 8.807)	Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®		Lâmina preparada pelo método convencional	
	N	%	N	%
Alterações celulares benignas				
*Infecção:				
Espécie <i>Candida</i>	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Espécie <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Bactérias (outras)	52	0,6	191	2,2
**Alterações Reactivas Regenerativas	424	4,8	319	3,6

• Na categoria de infecção acima, são feitas observações sobre os agentes infecciosos. É possível que mais de uma classe de organismos esteja representada em cada caso.

** As alterações reactivas regenerativas incluem alterações reactivas associadas a inflamação, vaginite atrofica, radiação e utilização de DIU bem como regeneração típica envolvendo células epiteliais pavimentosas, colunares ou metaplásicas pavimentosas.

Um total de 8.807 casos não continha qualquer avaliação “insatisfatória” quer pelos centros de estudo quer pelo centro de referência. Outras 239 amostras foram classificadas como “insatisfatórias” por um ou por outro dos centros de estudo e/ou pelo centro de referência ou por ambos relativamente a uma ou outra das preparações ou relativamente a ambas. Dos 239 casos insatisfatórios, 151 foram encontrados apenas em lâminas convencionais; 70 em apenas lâminas SurePath®, tendo 18 sido observados tanto nas lâminas convencionais nas como SurePath®. Todos os casos insatisfatórios foram excluídos da comparação de diagnóstico pelas categorias do *The Bethesda System*, mas foram novamente incluídas para a comparação da adequação da preparação.

Os Quadros 13 a 16 apresentam os resultados da adequação da preparação em todos os centros.

Quadro 13 Primeiro estudo de amostra dividida: Resultados da adequação da preparação

Adequação da preparação (Nº de doentes: 9.046)	Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®		Lâmina preparada pelo método convencional	
	N	%	N	%
Satisfatória	7.607	84,1	6.468	71,5
Satisfatória mas limitada por:	1.385	15,3	2.489	27,5
Ausência de componente endocervical	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefacto de secagem ao ar	0	0	17	0,2
Esfregaço espesso	1	< 0,1	0	0
Sangue a ocultar	53	0,6	121	1,3
Inflamação a ocultar	102	1,1	310	3,4
Poucas células epiteliais pavimentosas	4	< 0,1	7	0,1
Citólise	10	0,1	11	0,1
Ausência de antecedentes clínicos	0	0	0	0
Não especificado	60	0,7	1.018	11,3
Insatisfatória para avaliação:	54	0,6	89	1,0
Ausência de componente endocervical	42	0,5	42	0,5
Artefacto de secagem ao ar	0	0	0	0
Esfregaço espesso	0	0	2	< 0,1
Sangue a ocultar	7	0,1	6	0,1
Inflamação a ocultar	6	0,1	6	0,1
Poucas células epiteliais pavimentosas	6	0,1	0	0
Citólise	0	0	1	< 0,1
Ausência de antecedentes clínicos	0	0	0	0
Não especificado	37	0,4	32	0,5

Nota: Algumas das doentes possuem mais de uma subcategoria.

Outros casos insatisfatórios foram determinados pelo patologista de referência e o número total de resultados insatisfatórios é apresentado no Quadro 15. No quadro, SAT = Satisfatória, SBLB = Satisfatória mas limitada por (uma condição especificada) e INSAT = insatisfatória.

Quadro 14 Primeiro estudo de amostra dividida: Resumo dos resultados da adequação da preparação em todos os centros de ensaio clínico

		Lâmina preparada pelo método convencional			
		SAT	SBLB	INSAT	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	INSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

INSAT: Resultado do teste de McNemar X^2 mc = 9,33, p = 0,0023

SBLB: Resultado do teste de McNemar X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

O Quadro 14 apresenta os resultados da comparação da adequação da preparação utilizando os dois métodos de preparação. Registou-se um número significativamente inferior de casos Insatisfatórios e de SBLB com as lâminas SurePath® relativamente às lâminas convencionais.

Quadro 15 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados insatisfatórios obtidos nos centros de ensaio clínico e no centro de referência

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		SAT	INSAT	
Lâmina SUREPATH® preparada por PrepStain®	SAT	8.807	151	8.958
	INSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Resultado do teste de McNemar X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

O Quadro 15 apresenta a comparação das preparações satisfatórias e insatisfatórias das avaliações feitas tanto nos centros de ensaio como no centro de referência. As lâminas SurePath® apresentam uma redução estatisticamente significativa de casos insatisfatórios relativamente às lâminas convencionais.

Quadro 16 Resultados da adequação da preparação por centro—Taxas de SBLB para componente endocervical (ECC)

Centro	Casos	SBLB SurePath® sem ECCs N (%)	SBLB convencional sem ECCs N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Todos os centros	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

A detecção de células endocervicais (Quadro 16) variou nos diferentes centros de ensaio. Em termos gerais, registou-se uma diferença de 1,8% na detecção de células endocervicais entre os métodos do citologia convencional e SurePath®, o que constitui um resultado semelhante aos estudos anteriores em que se utilizou a metodologia da amostra dividida.^{16,17}

As lâminas SurePath® produzidas pelo sistema PrepStain® forneceram resultados semelhantes às citologias convencionais nas comparações de amostras divididas numa série de populações de doentes e de definições laboratoriais. Além disso, registou-se um número significativamente inferior de casos Insatisfatórios e de SBLB com as lâminas SurePath® relativamente às citologias convencionais. Deste modo, a lâmina SurePath® pode ser utilizada em substituição da citologia convencional na detecção de células atípicas, lesões pré-cancerosas, cancro do colo do útero e todas as outras categorias citológicas definidas pelo The Bethesda System.

AVALIAÇÃO DA PREPARAÇÃO DA LÂMINA SUREPATH® UTILIZANDO O PREPMATE® E OS MÉTODOS MANUAIS

A TriPath Imaging realizou um ensaio clínico multicêntrico de prospecção para avaliar duas modificações ao procedimento aprovado pela FDA para a preparação de lâminas SurePath®. Segue-se uma descrição das modificações ao processo aprovado para a preparação de lâminas SurePath®:

- A inclusão do acessório PrepMate® (método PrepMate®), que automatiza os primeiros passos manuais do processo laboratorial PrepStain®. O PrepMate® mistura automaticamente e retira a amostra dos frascos de conservante SurePath® e dispõe a amostra em camadas sobre o PrepStain® Density Reagent numa proveta.
- A inclusão do método manual, em que, em vez de utilizar o instrumento PrepStain® para suspensão das células e coloração da lâmina, tanto a suspensão das células disposta manualmente em camadas sobre a lâmina como a coloração são realizadas por um técnico do laboratório.

Este estudo avaliou mais de 400 casos numa comparação oculta dos dois métodos alternativos ao procedimento actualmente aprovado para a preparação de lâminas SurePath®. A comparação baseou-se em critérios morfológicos e de qualidade aplicados às lâminas preparadas por cada um dos métodos.

Os principais objectivos do estudo consistiam em:

- Avaliar os aspectos morfológicos e de qualidade das lâminas SurePath® preparadas utilizando o método PrepMate® relativamente às lâminas preparadas de acordo com o método aprovado de utilização do sistema PrepStain® (designado por método PrepStain®).
- Avaliar os aspectos morfológicos e de qualidade das lâminas SurePath® preparadas utilizando o método manual relativamente às lâminas preparadas de acordo com o método aprovado PrepStain®.

Outros objectivos do estudo consistiam em:

- Determinar se o grau de consenso entre o método PrepStain® aprovado e o método PrepMate® era superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso.
- Determinar se o grau de consenso entre o método PrepStain® aprovado e o método Manual era superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com as normas do sistema PrepStain® para a preparação de lâminas SurePath® utilizando o método PrepMate®.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com as normas do sistema PrepStain® para a preparação de lâminas SurePath® utilizando o método Manual.

ACESSÓRIO PREPMATE®

O PrepMate® é um acessório do sistema PrepStain® que automatiza dois passos manuais - mistura e disposição em camadas das amostras - do processo laboratorial PrepStain®. O PrepMate® mistura completamente e retira com precisão a amostra dos frascos de conservante SurePath® e dispõe a amostra em camadas sobre o PrepStain® Density Reagent numa proveta. Um suporte de amostras pré-carregado com frascos de amostras, pipetas com efeito de seringa e provetas (contendo fluido de densidade) é colocado no tabuleiro do instrumento. O suporte contém um máximo de doze frascos, tubos e pipetas com efeito de seringa, dispostos em três filas, cada uma com quatro elementos. Os frascos, as pipetas e os tubos são descartáveis. Podem ser utilizados apenas uma vez para eliminar a possibilidade de contaminação das amostras.

MÉTODO MANUAL

O método Manual utiliza um procedimento manual para disposição da suspensão de células em camadas sobre as lâminas e para coloração da preparação. A colheita e o processamento da amostra ginecológica são idênticas tanto no método Manual como no método PrepStain® aprovado até à altura em que se utiliza o instrumento PrepStain®.

No método PrepStain®, as bolas de células centrifugadas são colocadas directamente sobre o instrumento PrepStain® para processamento automatizado de modo a produzir lâminas SurePath® com coloração.

No método Manual, adiciona-se água desionizada à bola de células centrifugada seguido de mistura por vórtex para re-suspender e uniformizar a amostra. A amostra é transferida para uma câmara de incubação montada numa lâmina previamente revestida SurePath® PreCoat. Uma vez a amostra depositada sobre a lâmina, esta é submetida a coloração através de um procedimento de coloração de Papanicolaou.

NÚMERO DE LÂMINAS

O Quadro 17 mostra o número de lâminas utilizadas no estudo clínico. Convém referir que o conjunto de estudo consistia em **três lâminas por caso**.

Quadro 17 Número de lâminas

	Casos	Lâminas
Número total inscrito no estudo	471	1.413
Número total excluído da análise	-68	-204
Documentação incompleta	-39	-117
Lâminas preparadas incorrectamente	-24	-72
Outros motivos de exclusão *	-5	-15
Número total incluído na análise	403	1.209

* Amostras em falta, números de doentes duplicados, etc.

DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO

O Quadro 18 apresenta os dados demográficos etários das doentes para todos os casos incluídos na população do estudo.

Quadro 18 Dados demográficos das doentes

Idade	Número de casos
19 ou inferior	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

O Quadro 19 apresenta as informações clínicas actuais e o Quadro 20 apresenta os antecedentes clínicos para todos os casos incluídos na população do estudo. Convém referir que foi permitida a selecção de mais de um dos itens, pelo que a contagem total de casos pode não corresponder ao número total de casos na população do estudo.

Quadro 19 Informações clínicas actuais

Informações clínicas	Número de casos
Cíclica	241
Ciclo irregular	69
Histectomia	16
Gravidez	9
Pós-aborto	0
Pós-natal	9
Pós-menopausa	58
Peri-menopáusia	1
Imunidade reduzida	0
Apresentação GYN anormal	0
Corrimento vaginal	137
Terapêutica de substituição de estrogénios	19
DIU	2
Contraceptivo oral/implante	20
Sem planeamento familiar	181
Informação não disponível	22

Quadro 20 Antecedentes clínicos

Antecedentes	Número de casos
Citologia anterior anormal	13
Historial de hemorragias anormais	36
Biópsia	3
Historial de cancro	1
Quimioterapia	0
Radiação	0
Colposcopia	9
HIV/SIDA	0
HPV (Vírus da verruga)	0
Herpes	1
Historial de BTL*	1
Historial de PID*	57
Nada a indicar	363

- * Ligação bilateral das trompas
- Doença inflamatória pélvica

RESULTADOS DO ESTUDO

A finalidade deste estudo é determinar que as lâminas SurePath® preparadas utilizando os procedimentos do método PrepMate® e do método Manual comparam favoravelmente com as preparadas utilizando o método aprovado PrepStain®. Os dados clínicos demonstram que as lâminas preparadas com os métodos PrepMate® e Manual são comparáveis em termos de morfologia e qualidade com as preparadas pelo método PrepStain® aprovado.

Os dados clínicos também demonstram que o desempenho de diagnóstico é idêntico nos métodos PrepMate® e Manual quando comparados com o método PrepStain® aprovado. Além disso, a adequação das lâminas preparadas pelos métodos PrepMate® e Manual não difere das preparadas pelo método PrepStain® aprovado. Estes resultados corroboram a comparabilidade dos métodos PrepMate® e Manual relativamente ao método PrepStain® aprovado.

QUALIDADE E MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS

O Quadro 21 apresenta os resultados dos objectivos principais. A aceitabilidade das lâminas preparadas por cada um dos métodos foi avaliada relativamente aos critérios de morfologia e qualidade apresentados no quadro. Para cada um dos critérios, a percentagem de lâminas aceitáveis foi calculada juntamente com o correspondente intervalo de confiança exacto a 95%.

Quadro 21 Comparação das taxas e intervalos de confiança (CI) para os critérios de aceitabilidade

		Método de preparação das lâminas					
		PrepStain®		PrepMate®		Método Manual	
		Taxa (n/N)	Exacto 95% CI	Taxa (n/N)	Exacto 95% CI	Taxa (n/N)	Exacto 95% CI
Critérios de aceitabilidade	Coloração	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Limpidez	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nuclear	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Citologia	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Agrupamento	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Densidade celular	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

As taxas de aceitabilidade do método PrepMate® e Manual são quase sempre idênticas ou superiores às do método PrepStain®. Além disso, os intervalos de confiança exactos a 95% para os métodos PrepMate® e Manual sobrepõem-se substancialmente aos do método PrepStain® aprovado relativamente a cada um dos critérios. Tal implica que as lâminas preparadas pelos métodos PrepMate® e Manual são comparáveis em termos de morfologia e qualidade com as preparadas pelo método PrepStain® aprovado. A qualidade da preparação é, portanto, idêntica para o método aprovado e para os dois métodos testados.

CONSENSO DE DIAGNÓSTICO

Esta análise compara os diagnósticos em lâminas preparadas por cada um dos métodos. Uma vez que estes dados provêm de amostras divididas, as matrizes de diagnóstico apresentadas no Quadro 22 e no Quadro 23 baseiam-se em amostras emparelhadas, comparando cada um dos métodos de preparação de lâminas do teste (método PrepMate® e Manual) com o método PrepStain® aprovado. O ideal seria que o diagnóstico obtido a partir das lâminas preparadas pelos dois métodos fosse igual. Este facto é representado pelo número de lâminas com diagnóstico idêntico, que aparecem na diagonal principal de cada quadro.

A primeira medida de consenso é a percentagem de lâminas na diagonal principal e os intervalos de confiança exacto a 95% correspondentes. A segunda medida de consenso é obtida a partir da estatística kappa, que foi calculada para cada comparação e testada. O teste determina se o grau de consenso entre os dois métodos é superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso. Devido ao facto de as observações estarem ordenadas, é mais importante que as observações se situem sobre a diagonal principal ou próximo da mesma. A estatística do kappa ponderado atribui maior importância às observações que se situam sobre a diagonal principal ou próximo da mesma nos quadros.

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PREPMATE® E PREPSTAIN® APROVADOS

No Quadro 22, o número de lâminas na diagonal principal é de 367 (2+334+8+6+5+11+1) e a percentagem de lâminas na diagonal principal é de 0,9107 (367/403) com limites de confiança exactos a 95% de 0,8785 a 0,9366.

Se as lâminas não satisfatórias forem excluídas da tabela, eliminando-se a primeira linha e a primeira coluna, ficam 397 lâminas. A proporção de lâminas na principal diagonal é de 0,9194 (365/397) com limites de confiança a 95% de 0,8881 a 0,9442.

Os resultados apresentados no Quadro 22 indicam que o método PrepStain® aprovado e o método PrepMate® possuem uma elevada percentagem de lâminas com consenso no diagnóstico, como indica a percentagem de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kappa ponderado indica que o consenso foi muito superior ao que poderia ser atribuído apenas ao acaso.

Quadro 22 Apresentação cruzada em tabela dos diagnósticos pelos métodos PrepStain® e PrepMate®

Diagnóstico pelo método PrepStain®											
		Insat	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico pelo método PrepMate®	Insat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atipia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PREPSTAIN® APROVADO E MANUAL

No Quadro 23, o número de lâminas na diagonal principal é de 353 (3+315+6+10+7+11+1). A percentagem de lâminas na diagonal principal é de 0,8759 (353/403). O binómio exacto dos limites de confiança a 95% para esta percentagem é de 0,8397 para 0,9065.

Se as lâminas não satisfatórias forem excluídas da tabela, eliminando-se a primeira linha e a primeira coluna, ficam 398 lâminas. A proporção de lâminas na principal diagonal é de 0,8794 (350/398) com limites de confiança a 95% de 0,8433 a 0,9097. Os resultados apresentados no Quadro 23 indicam que o método PrepStain® aprovado e o método Manual possuem uma elevada percentagem de lâminas com consenso no diagnóstico, como indica a percentagem de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kappa ponderado indica que o consenso foi muito superior ao que poderia ser atribuído apenas ao acaso. Assim sendo, a qualidade da preparação é idêntica para o método aprovado e para os dois métodos testados.

Quadro 23 Apresentação cruzada em tabela dos diagnósticos pelos métodos PrepStain® e Manual

		Diagnóstico pelo método PrepStain®									
		Insat	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico pelo método Manual	Insat	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atipia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ADEQUAÇÃO DAS LÂMINAS

A adequação das lâminas foi avaliada para cada um dos métodos de preparação. Os dados foram analisados utilizando um teste de McNemar bi-partido.¹⁸

O Quadro 24 apresenta os resultados da adequação quando da comparação do método PrepStain® aprovado com o método PrepMate®.

Quadro 24 Resultados da adequação para as lâminas produzidas pelo método PrepMate® e PrepStain®

		Resultado do método PrepStain®		
		SAT ou SBLB	INSAT	
Resultado do método PrepMate	SAT ou SBLB	398	3	401
	INSAT	0	2	2
		398	5	403

O Quadro 25 apresenta os resultados da adequação quando da comparação do método PrepStain® aprovado com o método Manual.

Quadro 25 Resultados da adequação para as lâminas produzidas pelo método PrepStain® e Manual

		Resultado do método PrepStain®		
		SAT ou SBLB	INSAT	
Resultado do método Manual	SAT ou SBLB	398	2	400
	INSAT	0	3	3
		398	5	403

Estas duas comparações demonstram que os métodos PrepMate® e Manual não diferem do método PrepStain® aprovado no que se refere à adequação das lâminas.

ESTUDO DIRECTAMENTE PARA O FRASCO

Na sequência da aprovação inicial pela FDA do sistema PrepStain®, a TriPath Imaging realizou um estudo em vários centros de grandes dimensões sobre o sistema PrepStain® quando utilizado conforme previsto com amostras colocadas directamente no frasco. Os estudos clínicos anteriores utilizaram um método de amostra dividida em que a amostra era primeiro utilizada para criar uma lâmina de citologia convencional e a amostra remanescente era colocada no fluido de colheita SurePath® e processada pelo sistema PrepStain® para criar uma lâmina SurePath®. Ficou bem claro que a concepção de amostras divididas prejudica o verdadeiro desempenho do teste que é preparado a partir do material celular residual¹².

Este estudo comparou o desempenho das lâminas SurePath® produzidas a partir de amostras colocadas directamente no frasco com as citologias convencionais. Os resultados obtidos com SurePath® foram comparados com os resultados obtidos a partir de um histórico de citologias convencionais. Este estudo avaliou, especificamente, se as lâminas SurePath® melhoravam as hipóteses de detecção de lesões intraepiteliais pavimentosas de alto grau (HSIL), adenocarcinoma in-situ e cancro (HSIL+). Todos os dados de biópsias disponíveis foram coligidos para as duas populações representadas nas lâminas.

A população SurePath® era composta por 58.580 lâminas colhidas prospectivamente em 57 clínicas que tinham feito a conversão praticamente a 100% da colheita de citologia convencional para a colheita de amostras SurePath®. As amostras colhidas nestas clínicas foram enviadas para três centros clínicos para processamento.

A população convencional era composta por 58.988 lâminas provenientes das mesmas clínicas que as lâminas SurePath®. Esta população histórica foi recolhida com início nas lâminas mais recentes anteriores à conversão das clínicas para o método SurePath® e depois recuando no tempo até as populações de lâminas convencionais e SurePath® de cada centro clínico terem um número aproximadamente igual.

Os resultados deste estudo demonstraram uma taxa de detecção de 405/58.580 para as lâminas SurePath® relativamente a 248/58.988 para as lâminas convencionais, resultando em taxas de detecção de 0,691% e 0,420%, respectivamente (ver o Quadro 26). Para estes centros clínicos e estas populações de estudo, estes resultados indicam um aumento de 64,4% (p<0,00001) na detecção de lesões HSIL+ com as lâminas SurePath®.

Quadro 26 Comparação das taxas de detecção por centro

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	HSIL+	Percentage m (%)	Total	HSIL+	Percentage m (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Total	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	LSIL+	Percentage m (%)	Total	LSIL+	Percentage m (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Total	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	ASCUS+	Percentage m (%)	Total	ASCUS+	Percentage m (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Total	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	INSAT+	Percentage m (%)	Total	INSAT+	Percentage m (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Total	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Nota: É de esperar que existam variações de desempenho de um centro para o outro. Cada laboratório deve monitorizar a qualidade do seu próprio trabalho

PROCEDIMENTO

Os procedimentos completos para a preparação de lâminas SurePath® encontram-se no Manual do Utilizador do sistema PrepStain®.

BIBLIOGRAFIA

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994

2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23

3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197

4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422

5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standarization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185

6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Adegos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177

7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119

8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500

9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29

10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041

11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678

12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184

13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12: 153-7

14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62

15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995

16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642

17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776

18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.

19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NOME E SEDE DA EMPRESA

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA
(800) 426-2176

TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
Informação PrepStain®: 1-800-426-2176 ou 336-222-9707
Fax: 336-222-8819.
Números de patentes EUA: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Números de patentes Canadá: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Números de patentes Japão: 2837076, 2781513.
Números de patentes Europa: 0590504, 0590447, 0590506B.
Outras patentes EUA e estrangeiras pendentes.



Medical Device Consultants International Ltd
Arundel House
1 Liverpool Gardens
Worthing
West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το σύστημα PrepStain® (πρώην σύστημα AutoCyte® PREP) είναι μια διαδικασία υγρής βάσης, για την προετοιμασία κυτταρολογικών δειγμάτων λεπτής στρώσης. Το σύστημα PrepStain® παράγει αντικειμενοφόρους SurePath® οι οποίες προορίζονται για την αντικατάσταση των συμβατικών γυναικολογικών Pap επιχρισμάτων. Οι αντικειμενοφόροι SurePath® (πρώην αντικειμενοφόροι AutoCyte® PREP) προορίζονται για χρήση στη διαλογή και τον εντοπισμό του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, των προ-καρκινωδών βλαβών, άτυπων κυττάρων και άλλων κυτταρολογικών κατηγοριών, όπως αυτές καθορίζονται από το *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses* (Σύστημα Bethesda για την αναφορά των κυτταρολογικών διαγνώσεων της μήτρας και του κόλπου).^{1, 19}

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το σύστημα PrepStain® μετατρέπει ένα υγρό εναιώρημα ενός δείγματος κυττάρων του τραχήλου της μήτρας σε μια διακριτά χρωματισμένη και ομοιογενή, λεπτή στρώση κυττάρων, ενώ παράλληλα διατηρεί τις διαγνωστικές κυτταρικές συστάδες.²⁻⁹ Η διαδικασία περιλαμβάνει τη διατήρηση των κυττάρων, την τυχαίωση, τον εμπλουτισμό του διεγερστικού υλικού, τη μεταφορά με πιπέτα, την καθίζηση, τη χρώση και την κάλυψη με καλυπτρίδα ώστε να δημιουργηθεί η αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath® που θα χρησιμοποιηθεί στη συνήθη κυτταρολογική διαλογή και κατηγοριοποίηση όπως αυτή καθορίζεται από το *The Bethesda System*.¹ Η αντικειμενοφόρος SurePath® προσφέρει ένα καλά διατηρημένο πληθυσμό χρωματισμένων κυττάρων εντός ενός κύκλου διαμέτρου 13mm. Έχει εξελιχθεί κατά ένα μεγάλο ποσοστό, τα τεχνητά προϊόντα λόγω της ξήρανσης του αέρα, τη συγκάλυψη, την αλληλοεπικάλυψη του κυτταρικού υλικού και των θραυσμάτων. Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι σημαντικά μειωμένος, επιτρέποντας την ευκολότερη οπτικοποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, των διαγνωστικά συναφών κυττάρων και των λοιμογόνων οργανισμών.

Η διαδικασία του SurePath® ξεκινά με το αρμόδιο ιατρικό προσωπικό το οποίο χρησιμοποιεί μια δειγματοληπτική συσκευή τύπου σκούπας (π.χ. Cervex Brush® των ιατρικών συσκευών Rovers B.V., Oss - Ολλανδία) ή κάποιον συνδυασμό ενδοτραχηλικής βούρτσας/πλαστικής σπάτουλας (π.χ., Cytobrush® Plus GT και σπάτουλα Pap Perfect®, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) με αποσπώμενη(ες) κεφαλή(ες) για τη συλλογή γυναικολογικού δείγματος. Αντί να γίνεται επίχρισμα των κυττάρων που συνελέγησαν από τις δειγματοληπτικές συσκευές, γίνεται αποσπώση των κεφαλών από τη λαβή των συσκευών δειγματοληψίας οι οποίες στη συνέχεια τοποθετούνται στο φιαλίδιο με το υγρό συντήρησης του SurePath®. Το φιαλίδιο ποματίζεται, επικολλείται ετικέτα με το αποστέλλεται στο εργαστήριο μαζί με τα αντίστοιχα έγγραφα για επεξεργασία. Οι κεφαλές των δειγματοληπτικών συσκευών δεν αφαιρούνται καθόλου από το φιαλίδιο συντήρησης με το συλλεχθέν δείγμα.

Στο εργαστήριο, το διατηρημένο δείγμα αναμιγνύεται σε vortex και στη συνέχεια μεταγγίζεται στο αντιδραστήριο πυκνότητας PrepStain®. Το βήμα εμπλουτισμού συνίσταται στη φυγοκεντρική καθίζηση μέσω του αντιδραστηρίου πυκνότητας, το οποίο απομακρύνει από το δείγμα τα μη διαγνωστικά θραύσματα και την περίσσεια των φλεγμονωδών κυττάρων. Μετά τη φυγοκέντρωση, το συσσωμάτωμα των κυττάρων εναιωρείται εκ νέου, αναμιγνύεται και μεταφέρεται στον θάλαμο κατακάθισης PrepStain® που είναι τοποθετημένος πάνω σε μια PreCoat αντικειμενοφόρο πλάκα SurePath®. Τα κύτταρα κατακάθονται με τη βαρύτητα και στη συνέχεια χρωματίζονται εφαρμόζοντας μια τροποποιημένη διαδικασία της χρώσης Παπανικολάου. Η αντικειμενοφόρος διαγάζεται με ξυλάνιο ή υποκατάστατο του ξυλάνιου και καλύπτεται με καλυπτρίδα. Τα κύτταρα, τα οποία παρουσιάζονται εντός ενός κύκλου διαμέτρου 13mm, εξετάζονται σε μικροσκόπιο από εκπαιδευμένους κυτταροτεχνολόγους και παθολόγους με πρόσβαση και σε άλλες πληροφορίες που είναι σχετικές με το υπόβαθρο του ασθενούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Τα γυναικολογικά δείγματα που προορίζονται για την προετοιμασία παρασκευασμάτων με το σύστημα PrepStain®, πρέπει να συλλέγονται χρησιμοποιώντας μια δειγματοληπτική συσκευή τύπου σκούπας ή κάποια ενδοτραχηλική βούρτσα/πλαστική σπάτουλα σε συνδυασμό με αποσπώμενη(ες) κεφαλή(ες), σύμφωνα με την τυπική διαδικασία συλλογής που παρέχει ο κατασκευαστής. Με το σύστημα PrepStain® δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ξύλινες σπάτουλες. Με το σύστημα PrepStain® δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται να χρησιμοποιούνται μη αποσπώμενοι ενδοτραχηλικοί συνδυασμοί βούρτσας/πλαστικής σπάτουλας.
- Η εκπαίδευση από αρμόδια άτομα είναι προαπαιτούμενο για την παραγωγή και την αξιολόγηση των αντικειμενοφόρων SurePath®. Οι κυτταροτεχνολόγοι και οι παθολόγοι θα είναι εκπαιδευμένοι στην αποτίμηση της μορφολογίας στις αντικειμενοφόρους SurePath®. Η εκπαίδευση θα περιλαμβάνει και μια εξέταση επάρκειας γνώσεων. Στους πελάτες του εργαστηρίου θα προσφέρονται οδηγίες με εκπαιδευτική αντικειμενοφόρο και σετ εξετάσεων. Επίσης, η TriPath Imaging®, Inc. θα προσφέρει βοήθεια στην προετοιμασία των εκπαιδευτικών αντικειμενοφόρων από την ομάδα ασθενών του κάθε πελάτη.
- Για τη σωστή απόδοση του συστήματος PrepStain® απαιτείται η χρήση των υλικών που παρέχει ή προτείνονται από την TriPath Imaging, για χρήση με το σύστημα PrepStain®. Οι μεταχειρισμένες προμήθειες πρέπει να απορρίπτονται με τον ενδεδειγμένο τρόπο και σύμφωνα με τους κρατικούς κανονισμούς και τους κανονισμούς του ιδρύματος.
- Όλες οι προμήθειες προορίζονται για εφ' άπαξ χρήση και δεν μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν.

Αντιδραστήρια



Για in vitro διαγνωστική χρήση. Μόνο για εργαστηριακή χρήση.

Προειδοποιήσεις



Το υγρό συντήρησης SurePath® περιέχει υδατικό διάλυμα μετουσιωμένης αιθανόλης. Το μίγμα περιέχει μικρές ποσότητες μεθανόλης και ισοπροπανόλης. Μην το καταπίνετε.



Το αντιδραστήριο πυκνότητας PrepStain® περιέχει νατράζιδο. Μην το καταπίνετε. Το νατράζιδο ενδέχεται να αντιδράσει με τον μόλυβδο ή τον χαλκό των υδραυλικών σωληνώσεων, σχηματίζοντας εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με άφθονο νερό για να αποφύγετε τη συσσώρευση του αζιδίου. Για περισσότερες πληροφορίες ανατρέξτε στη δημοσίευση DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, έχει εκδοθεί από τα Centers for Disease Control (Κέντρα Ελέγχου Λοιμώξεων). Βλέπε διεύθυνση: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Ο συνδυασμός κυτταρολογικής χρώσης PrepStain® ΕΑ/ΟΓ περιέχει αλκοόλη. Τοξικό σε περίπτωση κατάποσης. Μην αναπνέετε τους ατμούς. Να χρησιμοποιείται με επαρκή αερισμό. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Πολύ εύφλεκτο.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Πρέπει να ακολουθείται η σωστή εργαστηριακή πρακτική, ενώ πρέπει να τηρούνται αυστηρά όλες οι διαδικασίες για τη χρήση του συστήματος PrepStain®.
- Για τη διασφάλιση της σωστής απόδοσης, τα αντιδραστήρια πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (15° έως 30° C) και να χρησιμοποιούνται πριν την ημερομηνία λήξης τους. Η συνθήκη φύλαξης του υγρού συντήρησης SurePath® χωρίς κυτταρολογικά δείγματα διαρκεί έως 36 μήνες από την ημερομηνία παρασκευής, σε θερμοκρασία δωματίου (15° έως 30° C). Το όριο φύλαξης του υγρού συντήρησης SurePath® με κυτταρολογικά δείγματα είναι 6 μήνες σε θερμοκρασία ψύξης (2° έως 10° C) ή 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου (15° έως 30° C).
- Αποφύγετε το πισίλισμα ή τη δημιουργία αερολυμάτων. Οι χειριστές πρέπει να χρησιμοποιούν τον κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό για τα χέρια, τα μάτια και τον ρουχισμό.
- Το υγρό συντήρησης SurePath® έχει εξεταστεί για την αντιμικροβιακή του αποτελεσματικότητα έναντι των: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* και *Aspergillus niger* και έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικό έναντι αυτών. Δείγματα υγρού διατήρησης SurePath® που εμβολιάστηκαν με 10⁶ CFU/ml (μονάδες σχηματισμού αποικιών) καθενός από τα είδη αυτά δεν παρουσίασαν ανάπτυξη τους μετά από 14 ημέρες (28 ημέρες για το *Mycobacterium tuberculosis*) επώασης υπό κανονικές συνθήκες. Ωστόσο πρέπει πάντα να τηρούνται οι γενικές προφυλάξεις για τον ασφαλή χειρισμό των βιολογικών υγρών.
- Η αδυναμία τήρησης των προτεινόμενων διαδικασιών που υπογραμμίζονται στο εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος PrepStain® ενδέχεται να οδηγήσει σε μειωμένη απόδοση.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

Για πλήρεις πληροφορίες σχετικά με τα αντιδραστήρια, τα συστατικά και τα συμπληρωματικά στοιχεία, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος PrepStain®. Για τη χειροκίνητη προετοιμασία (χωρίς τη χρήση του οργάνου PrepStain®) των αντικειμενοφόρων SurePath® δεν απαιτούνται όλα τα υλικά που παρατίθενται παρακάτω.

Παρεχόμενα υλικά

- Όργανο PrepStain®
- Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης SurePath® (περιλαμβάνει το υγρό συντήρησης SurePath®)
- Τραχηλική(ες) συσκευή(ες) δειγματοληψίας με αποσπώμενη(ες) κεφαλή(ες)
- Αντιδραστήριο πυκνότητας PrepStain®
- Θάλαμοι κατακάθισης PrepStain®
- Κυτταρολογικό κιτ χρώσης
- PreCoat αντικειμενοφόροι SurePath®
- Σωλήνες φυγοκέντρωσης
- Σταθίες αντικειμενοφόρων και σωλήνων
- Αναλώσιμα ρύγχη μεταφοράς και αναρρόφησης

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Μίκτης τύπου vortex
- Απονισμένο νερό (pH 7,5 έως 8,5)
- Ισοπροπανόλη και αλκοόλη βαθμού αντιδραστηρίου
- Διαγναστικό μέσο, υλικό επικάλυψης και υλινές καλυπτρίδες

Φύλαξη

Η συνθήκη φύλαξης του υγρού συντήρησης SurePath® χωρίς κυτταρολογικά δείγματα διαρκεί έως 36 μήνες από την ημερομηνία παρασκευής, σε θερμοκρασία δωματίου (15° έως 30° C).

Το όριο φύλαξης του υγρού συντήρησης SurePath® με κυτταρολογικά δείγματα είναι 6 μήνες σε θερμοκρασίες ψύξης (2° έως 10° C) ή 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου (15° έως 30° C).

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ

Μετά την ωρμόδια από την TriPath Imaging εκπαίδευση του χρήστη στο σύστημα PrepStain® και τις αντικειμενοφόρους SurePath®, στις εν λόγω αντικειμενοφόρους ισχύουν τα κυτταρολογικά και διαγνωστικά κριτήρια του συστήματος Bethesda που χρησιμοποιούνται σήμερα στα κυτταρολογικά εργαστήρια για τα συμβατικά επιχρίσματα Pap.¹ Οι νέες κατευθυντήριες γραμμές που προτείνονται στην αναφορά του 2001 του συστήματος Bethesda απευθύνονται στα παρασκευάσματα υψηλής βάσης και καθορίζουν τον τρόπο προσδιορισμού της επαρκούς κυτταροβρίθειας και ειδικά στα συγκεκριμένα παρασκευάσματα.

Ένα παρασκεύασμα, απουσία παθολογικών κυττάρων, θεωρείται μη ικανοποιητικό όταν πληροί μια ή περισσότερες από τις παρακάτω συνθήκες:

(1) Ανεπαρκής αριθμός διαγνωστικών κυττάρων (λιγότερα από 5.000 κύτταρα πλακώδους επιθηλίου ανά παρασκεύασμα). Για την εκτίμηση του αριθμού των καλά διατηρημένων κυττάρων του πλακώδους επιθηλίου στις αντικειμενοφόρους SurePath®, προτείνονται οι ακόλουθες διαδικασίες:

- Εξετάστε το εγχειρίδιο του κατασκευαστή ή επικοινωνήστε με τον κατασκευαστή του μοντέλου του μικροσκοπίου που χρησιμοποιείτε στη διαλογή για να προσδιορίσετε το εμβαδόν του οπτικού πεδίου με το προτιμώμενο προσοφθάλμιο και τον αντικειμενικό φακό 40x. Εναλλακτικά, υπολογίστε το εμβαδό του πεδίου χρησιμοποιώντας ένα αμμοκυτταρόμετρο ή άλλη παρόμοια κλίμακα μέτρησης σε αντικειμενοφόρο μικροσκοπίου (Εμβαδόν πεδίου = πr² όπου r είναι η ακτίνα του πεδίου).
- Ο μέσος ελάχιστος αριθμός κυττάρων ανά πεδίο αντικειμενικού φακού 40x μπορεί να προσδιοριστεί διαιρώντας το εμβαδόν του πεδίου εναποθέσης των κυττάρων της αντικειμενοφόρου SurePath®, που είναι κατά προσέγγιση 130 mm², δια του εμβαδόν του πεδίου των συγκεκριμένων μικροσκοπίου. Στη συνέχεια ο αριθμός που προκύπτει διαιρείται στο ελάχιστο των 5.000 κυττάρων. Ο αριθμός που προκύπτει είναι ο προτεινόμενος ελάχιστος μέσος αριθμός επάρκειας των επιθηλιακών κυττάρων στο οπτικό πεδίο του αντικειμενικού φακού 40x. Καταγράψτε τον παραπάνω αριθμό και κρατήστε τον για να χρησιμοποιείται ως αναφορά από τον κυτταροτεχνολόγο. Οι κατευθυντήριες γραμμές Bethesda 2001 υποδεικνύουν, κατά προσέγγιση, τον αριθμό των κυττάρων ανά πεδίο για ένα παρασκεύασμα 13 mm.
- Κατά μήκος του κέντρου της διαμέτρου του παρασκευάσματος πρέπει να μετρούνται, είτε οριζόντια είτε κάθετα, το ελάχιστο δέκα πεδία.
- Ένας πρακτικός τρόπος για την αποτίμηση της κυτταροβρίθειας, είναι η μακροσκοπική αξιολόγηση της οπτικής πυκνότητας του χρωματισμένου παρασκευάσματος, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της επάρκειας των κύκλων παραγωγής της προετοιμασίας. Ωστόσο, δεν υπάρχει υποκατάστατο για τις κύρια μικροσκοπική αξιολόγηση από τον κυτταροτεχνολόγο στη διάρκεια της διαδικασίας διαλογής.

(2) Ένα ποσοστό 75% και άνω των κυτταρικών συστατικών επικαλύπτεται από φλεγμονή, αίμα, βακτήρια, βλέννα ή τεχνητά προϊόντα που εμποδίζουν την κυτταρολογική ερμηνεία της αντικειμενοφόρου.

Κάθε ανώμαλη ή αμφισβητούμενη παρατήρηση κατά τη διαλογή πρέπει να αναφέρεται στον παθολόγο για ανασκόπηση και διάγνωση. Ο παθολόγος πρέπει να σημειώνει οποιαδήποτε διαγνωστικά σημαντική μεταβολή στην κυτταρική μορφολογία.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΠΟΔΟΣΗΣ: ΑΝΑΦΟΡΑ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΜΕΛΕΤΩΝ

ΜΕΛΕΤΗ ΔΙΑΙΡΕΣΗΣ ΠΡΩΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Η TriPath Imaging διεξήγαγε μια προοπτική, καλυμμένη, διατεταγμένη δείγματος, αντιστοιχιζόμενο ζεύγους κλινική έρευνα σε διάφορους τόπους με την οποία συνέκρινε τα διαγνωστικά αποτελέσματα των αντικειμενοφόρων SurePath® που παρήχθησαν στο σύστημα PrepStain® με παρασκευάσματα συμβατικών επιχρισμάτων Pap. Σκοπός της μελέτης ήταν να αποτιμήσει την απόδοση του SurePath® σε σύγκριση με το συμβατικό επίχρισμα Pap στον εντοπισμό του τραχηλικού καρκίνου, των προ-καρκινικών βλαβών και των άτυπων κυττάρων σε διάφορους πληθυσμούς ασθενών και εργαστηριακές συνθήκες. Επίσης, σε αμφοτέρω τα παρασκευάσματα έγινε και αποτίμηση της επάρκειας.

Ακολουθώντας τις συστάσεις της FDA στο έγγραφο «Points to Consider» (Σημεία προς εξέταση) για τις Κυτταρολογικές τραχηλικές συσκευές¹⁰, πρώτα προετοιμάζονταν το συμβατικό επίχρισμα Pap και στη συνέχεια το δείγμα που παρέμενε στη δειγματοληπτική συσκευή τύπου σκούπας εναποθέτονταν μέσα σε ένα φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης SurePath®.

Μετά τη μεταφορά στο εργαστήριο, γίνονταν η επεξεργασία κάθε διατηρημένου εναιωρήματος κυττάρων σύμφωνα με το πρωτόκολλο του συστήματος PrepStain®. Χρησιμοποιώντας τα διαγνωστικά κριτήρια που ήταν σύμφωνα με το *The Bethesda System*, πραγματοποιήθηκε χειροκίνητη διαλογή και ξεχωριστή διάγνωση σε κάθε αντικειμενοφόρο SurePath® που προέκυπτε καθώς και στην αντίστοιχη αντικειμενοφόρο της με το συμβατικό επίχρισμα Pap. Σε κάθε τόπο μελέτης, ένας παθολόγος αξιολογούσε όλες τις παθολογικές αντικειμενοφόρους.

Η παρούσα μελέτη, συνεπώς προς τη μέθοδο που περιέγραψε ο Shatzkin¹¹, χρησιμοποιήσε ως αναφορά έναν ανεξάρτητο παθολόγο στον επιλεγμένο τόπο αναφοράς, ο οποίος εξέτασε εκ νέου όλες τις παθολογικές και αντιφατικές περιπτώσεις, τις περιπτώσεις αποκατάστασης καθώς και το 5% των φυσιολογικών περιπτώσεων όλων των τόπων, με τρόπο καλυμμένο, έτσι ώστε να προσδώσει διαγνωστική «αντικειμενικότητα» σε κάθε περίπτωση.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΣΘΕΝΩΝ

Οι γυναίκες της μελέτης είχαν ηλικίες που κυμαίνονταν από τα 16 έως τα 87 έτη, ενώ οι 772 ήταν μεταεμμηνοπαυσιακές. Από τις 8.807 ασθενείς που παρουσιάστηκαν στη μελέτη, οι 1.059 είχαν προηγούμενο ιστορικό παθολογικών επιχρισμάτων Pap. Ο συνολικός πληθυσμός των ασθενών που μελετήθηκε απαρτιζόταν από τις ακόλουθες φυλετικές ομάδες: Καυκάσιες (44%), Μαύρες (30%), Ασιάτισσες (12%), Ισπανόφωνες (10%), Ιθαγενείς Αμερικάνες (3%) και άλλες (1%).

Ο αποκλεισμός εφαρμόστηκε σε εσφαλμένη γραφική εργασία, στους ασθενείς κάτω των 16 ετών, στους ασθενείς με υστερεκτομία και στα κυτταρολογικούς ελαττωματικά και αναπαρήχθησαν σε οκτώ διαφορετικούς τόπους μελέτης. Από τις 9.046 περιπτώσεις, τις περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, μέσω της πρόσβασης σε ασθενείς υψηλού κινδύνου και ποσοδιακής διαλογής.

Από το σύνολο των 10.335 περιπτώσεων, έγιναν αποδεκτές οι 9.046 και οι οποίες αξιολογήθηκαν σε οκτώ διαφορετικούς τόπους μελέτης. Από τις 9.046 περιπτώσεις, τις προϋποθέσεις του *The Bethesda System* για την επάρκεια των παρασκευασμάτων πληρούσαν οι 8.807 και τελικά ήταν διαθέσιμες για πλήρη διάγνωση και στα δύο παρασκευάσματα.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο στόχος της κλινικής δοκιμής ήταν να συγκρίνει την απόδοση των αντικειμενοφόρων SurePath® που παράχθηκαν από το σύστημα PrepStain® με τα συμβατικούς προετοιμασμένα επιχρίσματα Pap. Η ταξινόμηση των αντικειμενοφόρων και των δύο τύπων παρασκευασμάτων έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια του *The Bethesda System*. Το πρωτόκολλο της μελέτης ήταν προκατειλημμένο υπέρ του συμβατικού επιχρισματος Pap επειδή το συμβατικό επίχρισμα Pap παρασκευάζονταν πάντα πρώτο και ως εκ τούτου περιόριζε την αντικειμενοφόρο SurePath® στο υπολειμματικό υλικό που παρέμενε στη συσκευή τύπου σκούπας (το τμήμα του δείγματος το οποίο κανονικά θα απορρίπτονταν).¹² Η χρήση για την οποία προορίζεται η εξέταση SurePath® είναι η απευθείας-στο-φιαλίδιο εφαρμογή, από το οποίο γίνονται διαθέσιμα στο σύστημα PrepStain® τα συλλεχθέντα κύτταρα.

Για τη σύγκριση της ευαισθησίας των αντικειμενοφόρων SurePath® και των συμβατικών επιχρισμάτων Pap κατά την χειροκίνητη ανάγνωση των αντικειμενοφόρων, ο παθολόγος αναφοράς προσδιόριζε το παθολογικό επίπεδο των περιπτώσεων και τις συνέκρινε με τις διαγνώσεις που είχαν πραγματοποιηθεί στους τόπους μελέτης. Η διάγνωση αναφοράς διεξάγονταν από τον ανεξάρτητο παθολόγο αναφοράς και βασιζόταν στην πλέον παθολογική διάγνωση ενός εκ των δύο παρασκευασμάτων. Το παραπάνω αποτέλεσμα χρησιμοποιήθηκε ως «αντικειμενική» διάγνωση ή ως τιμή αναφοράς για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων του τόπου μελέτης, χρησιμοποιώντας την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων SurePath® του συστήματος PrepStain® έναντι της συμβατικής προετοιμασίας των επιχρισμάτων Pap. Η μηδενική υπόθεση ότι οι ευαισθησίες των δύο μεθόδων στην προετοιμασία των αντικειμενοφόρων είναι ισοδύναμες, εξετάστηκε χρησιμοποιώντας τον έλεγχο McNemar του χ τετραγώνου για τα αντιστοιχιζόμενα δεδομένα.¹³ Στον παραπάνω στατιστικό έλεγχο συγκρίθηκαν τα αντιφατικά αποτελέσματα από τις δύο μεθόδους προετοιμασίας.

Ο πίνακας 1 παρουσιάζει μια απευθείας σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τόπων μελέτης για τις αντικειμενοφόρους SurePath® έναντι των συμβατικών αντικειμενοφόρων στις διαγνωστικές κατηγορίες αντιμετώπισης Εντός φυσιολογικών ορίων (*Within Normal Limits*, WNL), Άτυπα πλακώδη κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας/ Άτυπα αδενικά κύτταρα απροσδιόριστης σημασίας (*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance*, ASCUS/AGUS), Χαμηλού βαθμού πλακώδη ενδοεπιθηλιακή βλάβη (*Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion*, LSIL), Υψηλού βαθμού πλακώδη ενδοεπιθηλιακή βλάβη (*High-grade Squamous Intraepithelial Lesion*, HSIL) και Καρκίνος (Cancer, CA).

Πίνακας 1 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: 8.807 αντιστοιχιζόμενα δείγματα — Σύγκριση αποτελεσμάτων των τόπων μελέτης — Άνευ παθολόγου αναφοράς

Αποτελέσματα με βάση τον τόπο μελέτης								
Αρ. τόπου μελέτης	Τύπος αντικειμ ενοφόρο υ	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Σύνολο
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1,514	47	4	81	24	0	1,670
	CN	1,560	33	6	40	31	0	1,670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1,302	60	2	19	5	0	1,388
	CN	1,326	37	2	19	4	0	1,388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1,272	179	6	83	35	1	1,576
	CN	1,258	209	9	68	30	2	1,576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1,227	61	3	86	44	2	1,423
	CN	1,209	57	0	94	61	2	1,423
Σύνολο	SP	7,759	509	36	342	135	26	8,807
	CN	7,768	531	39	271	177	21	8,807

SP = SurePath®
CN = Συμβατικός

Ο πίνακας 2 παρουσιάζει μια απευθείας σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τύπων μελέτης της μεθόδου προετοιμασίας SurePath® έναντι της συμβατικής προετοιμασίας επιχρίσμάτων Pap, σε όλες τις διαγνωστικές κατηγορίες αντιμετώπισης.

Πίνακας 2 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: 8.807 αντιστοιχισμένα δείγματα
Σύγκριση αποτελεσμάτων των τύπων μελέτης — Άνευ παθολόγου αναφοράς

		Επίχρισμα Pap με συμβατική προετοιμασία						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Σύνολο
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	WNL	7,290	361	20	63	24	1	7,759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Σύνολο	7,768	531	39	271	177	21	8,807

Στους πίνακες 1 και 2 δεν αντικατοπτρίζονται τα αποτελέσματα του ανεξάρτητου παθολόγου αναφοράς.

Πίνακας 3 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τύπων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο αναφοράς ως ASCUS/AGUS – Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	113	205	318
	Σφάλμα	180	229	409
		293	434	727

Επιτυχία = ASCUS/AGUS
Σφάλμα = WNL & Αντιδραστικό/Επανορθωτικό

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,62, p = 0,2026$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 205
Σφάλματα SurePath®: 180

Ο πίνακας 3 παρουσιάζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί από τον παθολόγο αναφοράς ως ASCUS ή AGUS. Η συγκεκριμένη αξιολόγηση επιτρέπει την ανάλυση των σφαλμάτων ασυμφωνίας ώστε να αποτιμηθεί η ευαισθησία των μεθόδων σε μελέτες με σχεδιασμό διατεταγμένων δειγμάτων. Τα σφάλματα περιλαμβάνουν WNL και Αντιδραστικό/Επανορθωτικό. Εφόσον η τιμή p που προσδιορίστηκε στον έλεγχο McNemar, ήταν ανώτερη του 0,05, τα αποτελέσματα του SurePath® και του συμβατικού επιχρίσματος Pap ήταν ισοδύναμα.

Πίνακας 4 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τύπων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο αναφοράς ως LSIL – Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	140	63	203
	Σφάλμα	54	86	140
		194	149	343

Επιτυχία = LSIL
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό & ASCUS/AGUS

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,69, p = 0,4054$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 63
Σφάλματα SurePath®: 54

Ο πίνακας 4 παρουσιάζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί από τον παθολόγο αναφοράς ως LSIL. Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό & ASCUS/AGUS. Όπως και με την ASCUS/AGUS, η ευαισθησία των δύο μεθόδων στη μελέτη διατεταγμένων δειγμάτων, ήταν στατιστικά ισοδύναμη με την τιμή p να είναι ανώτερη του 0,05.

Πίνακας 5 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τύπων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL + Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας (το LSIL δεν συνιστά σφάλμα)

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	160	28	188
	Σφάλμα	36	38	74
		196	66	262

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό & ASCUS/AGUS

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,00, p = 0,3173$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 28
Σφάλματα SurePath®: 36

Ο πίνακας 5 παρουσιάζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί από τον παθολόγο αναφοράς ως HSIL+. Στην παραπάνω σύγκριση, το LSIL δεν θεωρείται σφάλμα αλλά ασυμφωνία.^{10,14,15} Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό και ASCUS/AGUS. Η ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας έδειξε ότι οι μέθοδοι της μελέτης διατεταγμένων δειγμάτων είναι ισοδύναμοι στατιστικά.

Πίνακας 6 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας για περιπτώσεις καρκίνου (το HSIL δεν είναι σφάλμα – το LSIL δεν υπολογίζεται ως σφάλμα)

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	19	2	21
	Σφάλμα	5	1	6
		24	3	27

Επιτυχία = Καρκίνος
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,645, p = 0,1980$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 2
Σφάλματα SurePath®: 5

Ο πίνακας 6 παρουσιάζει τα αποτελέσματα (όλων των τύπων μελέτης) των περιπτώσεων που κρίθηκαν από τη μέθοδο αναφοράς, ως καρκινικές. Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό, ASCUS/AGUS και LSIL. Από την ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας διαπιστώθηκε στατιστική ισοδυναμία των μεθόδων. Αυτές οι 27 περιπτώσεις καρκίνου συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη επαναξιολόγησης. Τα παραπάνω δεδομένα υπάρχουν στον πίνακα 9.

Πίνακας 7 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τύπων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL+ Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας (το LSIL στην παρούσα ανάλυση δεν υπολογίζεται ως σφάλμα)

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	94	33	127
	Σφάλμα	67	68	135
		161	101	262

Επιτυχία = (HSIL+)
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 11,56, p = 0,0007$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 33
Σφάλματα SurePath®: 67

Ο πίνακας 7 παρουσιάζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί από τον παθολόγο αναφοράς ως HSIL+. Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό, ASCUS/AGUS και LSIL. Χωρίς να είναι σύμφωνο με το αρχικό πρωτόκολλο της μελέτης¹⁰ πραγματοποιήθηκε μια στατιστική σύγκριση των μεθόδων κατά την οποία το LSIL λαμβάνονταν υπόψη ως διαγνωστικό σφάλμα σε συνάρτηση με μια περίπτωση που προσδιοριζόταν ως HSIL+ από τον μοναδικό ανεξάρτητο παθολόγο αναφοράς. Στην παραπάνω στατιστική σύγκριση των διαγνωστικών ευαισθησιών, όταν η LSIL λαμβάνονταν ως σφάλμα με βάση μια ελάχιστη ασυμφωνία, οι αντικειμενοφόροι SurePath® που προετοιμάζονταν με το σύστημα PrepStain® ως προς τα επιχρίσματα Pap που είχαν προετοιμαστεί με τον συμβατικό τρόπο, δεν ήταν ισοδύναμοι στον εντοπισμό της παθολογίας HSIL+ στη μελέτη διατεταγμένων δειγμάτων.

ΚΑΛΥΜΜΕΝΗ ΕΠΑΝΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ HSIL+

Για να προσδιοριστεί εάν τα αποτελέσματα είχαν επηρεαστεί από την ποιότητα της προετοιμασίας ή την ερμηνευτική υποκειμενικότητα, διεξήχθη μια καινούρια αξιολόγηση. Για να αποτιμηθούν οι 262 περιπτώσεις που είχαν διαγνωστεί ως HSIL+ στην αρχική μελέτη (πίνακας 7), πραγματοποιήθηκε μια επιπλέον αξιολόγηση μετά την εφαρμογή ενός καινούριου εκπαιδευτικού προγράμματος για τους επαγγελματίες κυταρολόγους, το οποίο είχε σχεδιαστεί με έμφαση τη συνετή ερμηνεία μεταξύ των διαγνωστικών ομάδων του The Bethesda System. Οι παραπάνω περιπτώσεις HSIL+ καλύφθηκαν εκ νέου, ως μέρος της επαναξιολόγησης που απαρτιζόνταν από ένα σύνολο 2.438 δειγμάτων που είχαν παρασκευαστεί με το ίδιο πρωτόκολλο κάλυψης. Στη συνέχεια τα αποτελέσματα του τόπου μελέτης για τα δύο παρασκευάσματα συγκρίθηκαν προς μια καινούρια τιμή αναφοράς, η οποία απαιτούσε συμφωνία δύο ή τριών τουλάχιστον ανεξάρτητων παθολόγων αναφοράς, ως προς την πλέον παθολογική, κυταρολογική διάγνωση.

Στη διαδικασία αναφοράς για την επαναξιολόγηση, αμφότερα τα παρασκευάσματα των αντικειμενοφόρων των περιπτώσεων ασυμφωνίας (αντικειμενοφόροι SurePath® προετοιμασίας PrepStain® και αντικειμενοφόροι συμβατικής προετοιμασίας) υποβλήθηκαν σε νέα διαλογή από δεύτερο κυταροτεχνολόγο, ενώ προστέθηκαν και καινούριες ανωμαλίες στις ήδη υπάρχουσες από την αρχική διαλογή. Στη συνέχεια τρεις κυταροπαθολόγοι αναφοράς, αξιολόγησαν όλες τις περιπτώσεις ασυμφωνίας χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο κάλυψης. Η αυστηρότερη μέθοδος αναφοράς μείωσε τον αριθμό των περιπτώσεων αναφοράς HSIL+ από τις 262 της αρχικής μελέτης, στις 209 με την επαναξιολόγηση. Η διαφορά των 53 περιπτώσεων μπορεί να εξηγηθεί ως ακολούθως: Οι 48 περιπτώσεις διαγνώστηκαν από την πιο αυστηρή μέθοδο αναφοράς ως LSIL ή λιγότερο βαριές· η επάρκεια των 3 περιπτώσεων κρίθηκε μη ικανοποιητική κατά την επαναξιολόγηση· ενώ οι υπόλοιπες 2 περιπτώσεις δεν ήταν διαθέσιμες για αποτίμηση στην καλυμμένη μέθοδο επαναξιολόγησης.

Πίνακας 8 Μελέτη επαναξιολόγησης: Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας για 209 αρχικές περιπτώσεις HSIL+ που επαναξιολογήθηκαν από αυστηρότερα κριτήρια αναφοράς στην οποία συμμετείχαν τρεις ανεξάρτητοι παθολόγοι αναφοράς

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	153	26	179
	Σφάλμα	24	6	30
		177	32	209

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 26
Σφάλματα SurePath®: 24

Ο πίνακας 8 παρουσιάζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που έχουν ταυτοποιηθεί από τον παθολόγο αναφοράς ως HSIL+. Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό, ASCUS/AGUS και LSIL. Στην παραπάνω σύγκριση, η LSIL θεωρήθηκε ως διαγνωστικό σφάλμα έναντι περίπτωσης που είχε προσδιοριστεί ως HSIL+ από τον ανεξάρτητο παθολόγο αναφοράς. Από τη σύγκριση των ευαισθησιών διάγνωσης διαπιστώθηκε στατιστική ισοδυναμία μεταξύ των δύο μεθόδων.

Πίνακας 9 Μελέτη επαναξιολόγησης: Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας για περιπτώσεις καρκίνου (το HSIL δεν είναι σφάλμα· το LSIL δεν υπολογίζεται ως σφάλμα)

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	32	3	35
	Σφάλμα	3	0	3
		35	3	38

Επιτυχία = Καρκίνος
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 3
Σφάλματα SurePath®: 3

Ο πίνακας 9 παρουσιάζει τα αποτελέσματα των περιπτώσεων που κρίθηκαν από την καινούρια μέθοδο αναφοράς, ως καρκινικές (όλοι οι τόποι μελέτης). Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό, ASCUS/AGUS και LSIL. Από την ερμηνεία της LSIL προέκυψε ένα σφάλμα. Όλα τα άλλα σφάλματα οφείλονταν στην ερμηνεία των αντικειμενοφόρων ως ASCUS/AGUS ή WNL. Από την ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας διαπιστώθηκε στατιστική ισοδυναμία των μεθόδων.

Η καλυμμένη επαναξιολόγηση περιείχε 2.097 καινούριες περιπτώσεις οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν για να καλύψουν εκ νέου τα αρχικά HSIL+ δείγματα. Η ανάλυση και η σύγκριση των παρασκευασμάτων των καινούριων περιπτώσεων, ακολουθούν στον πίνακα 10.

Πίνακας 10 Μελέτη επαναξιολόγησης: Άμεση σύγκριση 2.097 αποτελεσμάτων του τόπου μελέτης — Άνευ παθολόγου αναφοράς

		Επίχρσιμα Pap με συμβατική προετοιμασία						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Σύνολο
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη η με PrepStain®	WNL	1,561	128	0	47	30	0	1,766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
Σύνολο		1,710	203	3	104	70	7	2,097

Από τις 2.097 καινούριες περιπτώσεις που περιγράφηκαν παραπάνω, οι 77 διαγνώστηκαν ως HSIL+ από τους παθολόγους αναφοράς. Ο πίνακας 11 παρουσιάζει την ανάλυση ευαισθησίας αυτών των 77 περιπτώσεων HSIL+.

Πίνακας 11 Μελέτη επαναξιολόγησης: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των τόπων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL+ Ανάλυση σφάλματος ασυμφωνίας (το LSIL στην παρούσα ανάλυση δεν υπολογίζεται ως σφάλμα)

		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	Επιτυχία	25	21	46
	Σφάλμα	21	10	31
		46	31	77

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Σφάλματα συμβατικής μεθόδου: 21
Σφάλματα SurePath®: 21

Η ανάλυση των σφαλμάτων ασυμφωνίας στον πίνακα 11 αποκάλυψε έναν ισοδύναμο αριθμό αστοχιών HSIL+ και στις δύο μεθόδους προετοιμασίας. Στα σφάλματα περιλαμβάνονται τα WNL, Αντιδραστικό/Επανορθωτικό, ASCUS/AGUS και LSIL. Ο στατιστικός έλεγχος αποκάλυψε ισοδυναμία μεταξύ των δύο μεθόδων στον σχεδιασμό του διαμεριμένου δείγματος, ακόμα και όταν η LSIL εκλαμβάνονταν ως σφάλμα έναντι μιας τιμής αναφοράς του HSIL+.

Ο πίνακας 12 συνοψίζει τις περιγραφικές διαγνώσεις των καλοηθών ευρημάτων για όλους τους τόπους.

Πίνακας 12 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύνοψη των καλοηθών κυταρικών μεταβολών

Περιγραφική διάγνωση (Αρ. ασθενών: 8.807)	Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας	
	N	%	N	%
Καλοήθης κυταρικές μεταβολές *Λοίμωξη:				
Είδη <i>Candida</i>	440	5.0	445	5.1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1.3	202	2.3
Έρπητας	8	0.1	6	0.1
Gardnerella	85	1.0	44	0.5
Είδη <i>Actinomyces</i>	6	0.1	2	<0.1
Βακτήρια (άλλα)	52	0.6	191	2.2
**Αντιδραστικές Επανορθωτικές Μεταβολές	424	4.8	319	3.6

* Για την παραπάνω κατηγορία της λοίμωξης, αναφέρθηκαν οι παρατηρήσεις των λοιμογόνων παραγόντων. Ενδέχεται να αντιπροσωπεύεται περισσότερες από μια κατηγορίες οργανισμών ανά περίπτωση.

** Οι αντιδραστικές επανορθωτικές μεταβολές περιλάμβαναν τις αντιδραστικές μεταβολές που σχετίζονταν με τη φλεγμονή, την ατροφική κολπίτιδα, την ακτινοβολία και τη χρήση IUD, όπως επίσης την τυπική αποκατάσταση με τη συμμετοχή πλακωδών, πλακωδών μεταπλαστικών ή κυλινδρικών επιθηλιακών κυττάρων.

Ένα σύνολο 8.807 περιπτώσεων ήταν άνευ «μη ικανοποιητικής» αποτίμησης και από τους δύο τόπους της δοκιμής και τον τόπο αναφοράς. Επιπλέον, 239 δείγματα βαθμολογήθηκαν ως

«μη ικανοποιητικά» είτε σε έναν από τους δύο είτε και στους δύο τόπους δοκιμής ή τον τόπο αναφοράς, τόσο σε ένα από τα δύο όσο και στα δύο παρασκευάσματα. Από τις 239 μη ικανοποιητικές περιπτώσεις, οι 151 παρατηρήθηκαν μόνο στις συμβατικές αντικειμενοφόρους: οι 70 μόνο στις SurePath® και οι 18 παρατηρήθηκαν τόσο στη συμβατική όσο και στη SurePath® αντικειμενοφόρο. Όλες οι μη ικανοποιητικές περιπτώσεις αποκλείστηκαν από τη διαγνωστική σύγκριση με τις κατηγορίες του *The Bethesda System*, όμως προστέθηκαν πάλι πίσω για τη σύγκριση επάρκειας των παρασκευασμάτων.

Οι πίνακες 13 έως 16 παρουσιάζουν τα αποτελέσματα επάρκειας των παρασκευασμάτων για όλους τους τόπους.

Πίνακας 13 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Αποτελέσματα επάρκειας των παρασκευασμάτων

Επάρκεια παρασκευάσματος (Αρ. ασθενών: 9.046)	Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®		Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας	
	N	%	N	%
Ικανοποιητική	7,607	84.1	6,468	71.5
Ικανοποιητική περιορίζεται όμως από:	1,385	15.3	2,489	27.5
Απουσία ενδοτραχηλικού συστατικού	1,283	14.2	1,118	12.4
Τεχνητό προϊόν ξήρανσης στον αέρα	0	0	17	0.2
Παχύ επίχρισμα	1	< 0.1	0	0
Επικάλυψη αίματος	53	0.6	121	1.3
Επικάλυψη φλεγμονής	102	1.1	310	3.4
Αραιά πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα	4	< 0.1	7	0.1
Κυτταρόλυση	10	0.1	11	0.1
Απουσία κλινικού ιστορικού	0	0	0	0
Αδιευκρίνιστο	60	0.7	1,018	11.3
Μη ικανοποιητικό για αξιολόγηση:	54	0.6	89	1.0
Απουσία ενδοτραχηλικού συστατικού	42	0.5	42	0.5
Τεχνητό προϊόν ξήρανσης στον αέρα	0	0	0	0
Παχύ επίχρισμα	0	0	2	< 0.1
Επικάλυψη αίματος	7	0.1	6	0.1
Επικάλυψη φλεγμονής	6	0.1	6	0.1
Αραιά πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα	6	0.1	0	0
Κυτταρόλυση	0	0	1	< 0.1
Απουσία κλινικού ιστορικού	0	0	0	0
Αδιευκρίνιστο	37	0.4	32	0.5

Σημείωση: Ορισμένοι ασθενείς ανήκαν σε περισσότερες της μιας υποκατηγορίες.

Επιπρόσθετες μη ικανοποιητικές περιπτώσεις προσδιορίστηκαν από τον παθολόγο αναφοράς και ο συνολικός αριθμός των μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων αντικατοπτρίζεται στον πίνακα 15. Στον πίνακα, SAT = Ικανοποιητικό, SBLB = Ικανοποιητικό περιορίζεται όμως από (κάποια συγκεκριμένη κατάσταση) και UNSAT = Μη ικανοποιητικό.

Πίνακας 14 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύνοψη των αποτελεσμάτων επάρκειας των παρασκευασμάτων από όλες τους τόπους κλινικής δοκιμής

Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας					
		SAT	SBLB	UNSAT	
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	SAT	5,868	1,693	46	7,607
	SBLB	579	772	34	1,385
	UNSAT	21	24	9	54
		6,468	2489	89	9,046

UNSAT: Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar χ^2 mc = 9.33, p = 0.0023
SBLB: Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar χ^2 mc = 546.21, p = 0.0000

Ο πίνακας 14 παρουσιάζει τα αποτελέσματα της σύγκρισης επάρκειας των παρασκευασμάτων και των δύο μεθόδων προετοιμασίας. Στις αντικειμενοφόρους SurePath® σε σύγκριση με τις συμβατικές αντικειμενοφόρους, υπήρξαν σημαντικά λιγότερες Μη ικανοποιητικές και SBLB περιπτώσεις.

Πίνακας 15 Μελέτη διαίρεσης πρώτου δείγματος: Σύγκριση των μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων από τους τόπους των κλινικών δοκιμών και τον τόπο αναφοράς

Αντικειμενοφόρος συμβατικής προετοιμασίας				
	SAT	UNSAT		
Αντικειμενοφόρος SurePath® προετοιμασμένη με PrepStain®	SAT	8,807	151	8,958
	UNSAT	70	18	88
		8,877	169	9,046

Αποτέλεσμα του ελέγχου McNemar χ^2 mc = 29.69, p = 0.0000
Ο πίνακας 15 παρουσιάζει τη σύγκριση των ικανοποιητικών και των μη ικανοποιητικών παρασκευασμάτων από τις αξιολογήσεις τόσο από τους τόπους των κλινικών δοκιμών όσο και από τον τόπο αναφοράς. Οι αντικειμενοφόροι SurePath® εμφανίζουν μια στατιστικά σημαντική μείωση των μη ικανοποιητικών περιπτώσεων σε σύγκριση με τις συμβατικές αντικειμενοφόρους.

Πίνακας 16 Αποτελέσματα επάρκειας των παρασκευασμάτων με βάση τον τόπο — Συχνότερες SBLB για απουσία του ενδοτραχηλικού συστατικού (Endocervical Component, ECC)

Τόπος	Περιπτώσεις	SurePath® SBLB άνευ ECC N (%)	Συμβατική SBLB άνευ ECC N (%)
1	995	60 (6.0)	85 (8.5)
2	1,712	121 (7.1)	54 (3.2)
3	712	180 (25.3)	141 (19.8)
4	1,395	165 (11.8)	331 (23.7)
5	500	58 (11.6)	56 (11.2)
6	1,695	473 (28.2)	238 (14.2)
7	589	19 (3.3)	3 (0.5)
8	1,448	207 (14.3)	210 (14.5)
Όλοι οι τόποι	9,046	1,283 (14.2)	1,118 (12.4)

Ο εντοπισμός των ενδοτραχηλικών κυττάρων (πίνακας 16) διέφερε στους διάφορους τόπους κλινικής μελέτης. Μεταξύ των συμβατικών επιχρισμάτων Pap και των μεθόδων SurePath® υπήρξε μια συνολική διαφορά 1.8% στον εντοπισμό των ενδοτραχηλικών κυττάρων, η οποία ήταν όμοια με προηγούμενες μελέτες στις οποίες χρησιμοποιούνταν η μεθοδολογία του διαιρεμένου δείγματος.^{16,17}

Σε συγκρίσεις διαιρεμένου δείγματος από διάφορους πληθυσμούς ασθενών και εργαστηριακές συνθήκες, οι αντικειμενοφόροι SurePath® που παρήχθησαν με το σύστημα PrepStain® προσφέρουν παρόμοια αποτελέσματα με τα συμβατικά επιχρίσματα Pap. Επιπλέον, οι αντικειμενοφόροι SurePath® σε σύγκριση με τις συμβατικές αντικειμενοφόρους, είχαν σημαντικά λιγότερες Μη ικανοποιητικές και SBLB περιπτώσεις. Ως εκ τούτου, η αντικειμενοφόρος SurePath® μπορεί να αντικαταστήσει το συμβατικό επιχρίσμα Pap στον εντοπισμό των άτυπων κυττάρων, των προκαρκινικών βλαβών, του τραχηλικού καρκίνου και άλλων κυτταρολογικών κατηγοριών που ορίζει το The Bethesda System.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ SUREPATH® ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ PREPMATE® ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Η TriPath Imaging διεξήγαγε μια προοπτική και πολυκεντρική κλινική δοκιμή για την αξιολόγηση δύο τροποποιήσεων στην εγκεκριμένη από την FDA, διαδικασία προετοιμασίας των αντικειμενοφόρων SurePath®. Οι τροποποιήσεις στην εγκεκριμένη διαδικασία προετοιμασίας των αντικειμενοφόρων SurePath® ήταν οι ακόλουθες:

- Η προσθήκη του συμπληρωματικού συστατικού PrepMate® (μέθοδος PrepMate®), η οποία αυτοματοποιεί τα αρχικά χειροκίνητα βήματα της εργαστηριακής διαδικασίας PrepStain®. Το PrepMate® αναμειγνύει και απομακρύνει αυτόματα το δείγμα από τα φυαλίδια συντήρησης SurePath® και το επιστρώει σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα πάνω στο αντιδραστήριο πυκνότητα PrepStain®.
- Η προσθήκη της χειροκίνητης μεθόδου, κατά την οποία αντί της χρήσης του οργάνου PrepStain® για τη δημιουργία κυτταρικού εναωρήματος και τη χρήση της αντικειμενοφόρου, το κυτταρικό εναώρημα επιστρώνεται χειροκίνητα πάνω στην αντικειμενοφόρο και χρωματίζεται από τεχνολόγο εργαστηρίου.

Η συγκεκριμένη μελέτη αξιολόγησε πάνω από 400 περιπτώσεις με μια καλυμμένη σύγκριση των δύο εναλλακτικών μεθόδων προς την τρέχουσα εγκεκριμένη διαδικασία προετοιμασίας των αντικειμενοφόρων SurePath®. Η σύγκριση βασίστηκε στα μορφολογικά και ποιοτικά κριτήρια που ίσχυαν στις αντικειμενοφόρους που προετοιμάστηκαν από κάθε μέθοδο.

Οι κύριοι σκοποί της μελέτης ήταν να:

- Αξιολογήσουν τις μορφολογικές και ποιοτικές πτυχές των αντικειμενοφόρων SurePath® που προετοιμάστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο PrepMate® σε σύγκριση με τις αντικειμενοφόρους που προετοιμάστηκαν σύμφωνα με την εγκεκριμένη μέθοδο της χρήσης του συστήματος PrepStain® (αναφέρεται ως μέθοδος PrepStain®).
- Αξιολογήσουν τις μορφολογικές και ποιοτικές πτυχές των αντικειμενοφόρων SurePath® που προετοιμάστηκαν χρησιμοποιώντας τη χειροκίνητη μέθοδο σε σύγκριση με τις αντικειμενοφόρους που προετοιμάστηκαν σύμφωνα με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®.

Οι επιρόσθετοι σκοποί της μελέτης ήταν να:

- Προσδιοριστεί εάν το μέγεθος συμφωνίας μεταξύ της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® και της μεθόδου PrepMate® θα μπορούσε από σύμπτωση και μόνο, να είναι μεγαλύτερο από το αναμενόμενο.
- Προσδιοριστεί εάν το μέγεθος συμφωνίας μεταξύ της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® και της χειροκίνητης μεθόδου θα μπορούσε, από σύμπτωση και μόνο, να είναι μεγαλύτερο από το αναμενόμενο.
- Αποτιμηθεί η επάρκεια του δείγματος σύμφωνα με τα πρότυπα του συστήματος PrepStain® για την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων SurePath®, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο PrepMate®.
- Αποτιμηθεί η επάρκεια του δείγματος σύμφωνα με τα πρότυπα του συστήματος PrepStain® για την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων SurePath®, χρησιμοποιώντας τη χειροκίνητη μέθοδο.

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟ ΣΥΣΤΑΤΙΚΟ PREPMATE®

Το PrepMate® είναι ένα συμπληρωματικό συστατικό του συστήματος PrepStain® που αυτοματιάζει δύο χειροκίνητα στάδια—την ανάμιξη του δείγματος και την επίστρωση—στην εργαστηριακή διαδικασία PrepStain®. Το PrepMate® αναμιγνύει καλά, απομακρύνει με ακρίβεια το δείγμα από τα φιαλίδια συντήρησης SurePath® και το επιστρώει σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα πάνω στο αντιδραστήριο πυκνότητα PrepStain®. Ο στατήρας δειγμάτων με τα φιαλίδια των δειγμάτων και τους δοκιμαστικούς σωλήνες (που περιέχουν το υγρό πυκνότητας), τοποθετείται στον δίσκο του οργάνου. Ο στατήρας περιέχει έως δώδεκα φιαλίδια, σωλήνες και πιπέτες ενστάλαξης, τα οποία διευθετούνται σε τρεις σειρές των τεσσάρων θέσεων. Τα φιαλίδια, οι πιπέτες ενστάλαξης και οι σωλήνες είναι αναλώσιμα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται εφ' άπαξ για την εξάλειψη της πιθανότητας μόλυνσης του δείγματος.

ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η χειροκίνητη μέθοδος χρησιμοποιεί μια χειροκίνητη διαδικασία για την επίστρωση του κυτταρικού εναιωρήματος πάνω στις αντικειμενοφόρους και τη χρώση του παρυσκευδίσματος. Η συλλογή και επεξεργασία του γυναικολογικού δείγματος είναι πανομοιότυπα τόσο στη χειροκίνητη μέθοδο όσο και στην εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®, έως το σημείο χρήσης του οργάνου PrepStain®.

Στη μέθοδο PrepStain®, τα φυγοκεντρημένα συσσωματώματα των κυττάρων τοποθετούνται απευθείας πάνω στο όργανο PrepStain® για την αυτοματοποιημένη επεξεργασία παραγωγής των χρωματισμένων αντικειμενοφόρων SurePath®.

Κατά τη χειροκίνητη μέθοδο, προστίθεται αποιονισμένο νερό στο φυγοκεντρημένο συσσωμάτωμα των κυττάρων, το οποίο στη συνέχεια αναμιγνύεται σε συσκευή vortex προς σχηματισμό νέου εναιωρήματος και το δείγμα τυχαιοποιείται. Το δείγμα μεταφέρεται στον θάλαμο κατακρίσεως που είναι τοποθετημένο στην αντικειμενοφόρο PreCoat SurePath®. Μόλις το δείγμα κατακρίσει πάνω στην αντικειμενοφόρο, χρωματίζεται μαζί με άλλα δείγματα με τη διαδικασία της χρώσης Παπανικολάου.

ΑΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ

Ο πίνακας 17 παρουσιάζει τον απολογισμό για τις αντικειμενοφόρους της κλινικής μελέτης. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι η ομάδα της μελέτης απαρτιζόταν από **τρεις αντικειμενοφόρους ανά περίπτωση**.

Πίνακας 17 Απολογισμός αντικειμενοφόρων

	Περιπτώσεις	Αντικειμενοφόροι
Συνολικός αριθμός εγγεγραμμένων στη μελέτη	471	1,413
Συνολικός αριθμός αποκλεισθέντων από την ανάλυση	-68	-204
Ελλιπή τεκμηρίωση	-39	-117
Εσφαλμένη προετοιμασία αντικειμενοφόρων	-24	-72
Άλλοι λόγοι αποκλεισμού*	-5	-15
Συνολικός αριθμός που συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση	403	1,209

* Χαμένα δείγματα, διπλοί αριθμοί ασθενών, κλπ.

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Στον πίνακα 18 παρατίθενται τα δημογραφικά στοιχεία της ηλικίας των ασθενών για όλες τις περιπτώσεις που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη του πληθυσμού.

Πίνακας 18 Δημογραφικά στοιχεία ασθενών

Ηλικία	Αριθμός περιπτώσεων
19 ή νεότερος	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Σύνολο	403

Στον πίνακα 19 παρατίθενται οι τρέχουσες κλινικές πληροφορίες, ενώ στον πίνακα 20 παρατίθεται το κλινικό ιστορικό όλων των περιπτώσεων που συμπεριλήφθηκαν στον πληθυσμό της μελέτης. Σημειώστε ότι επιτράπηκε η επιλογή περισσοτέρων του ενός στοιχείων, γι' αυτό η συνολική καταμέτρηση των περιπτώσεων ενδέχεται να μην ταιριάζει με τον συνολικό αριθμό των περιπτώσεων του πληθυσμού της μελέτης.

Πίνακας 19 Τρέχουσες κλινικές πληροφορίες

Κλινική πληροφορία	Αριθμός περιπτώσεων
Κυκλικό	241
Ακανόνιστος κύκλος	69
Υστερεκτομή	16
Εγκυμοσύνη	9
Μετά από έκτρωση	0
Μετά από γέννα	9
Μεταεμμηνοπαυσιακή	58
Περίεμμηνοπαυσιακή	1
Ανοσοκαταστολή	0
Παθολογική εκδήλωση GYN	0
Εκκένωση κόλπου	137
Θεραπεία υποκατάστασης οιστρογόνων	19
IUD	2
Χορηγούμενα από το στόμας αντισυλληπτικά/Εμφύτευμα	20
Άνευ ελέγχου γεννήσεων	181
Μη διαθέσιμες πληροφορίες	22

Πίνακας 20 Κλινικό ιστορικό

Ιστορικό	Αριθμός περιπτώσεων
Παλαιότερη παθολογική κυτταρολογία	13
Ιστορικό παθολογικής αιμορραγίας	36
Βιοψία	3
Ιστορικό καρκίνου	1
Χημειοθεραπεία	0
Ακτινοβολία	0
Κολποσκόπηση	9
HIV/AIDS	0
HPV (ιός Wart)	0
Έρπητας	1
Ιστορικό ΑΠΣ*	1
Ιστορικό ΦΝΣ*	57
Κανένα	363

* Αμφοτερόπλευρη περίδεση σαλπίγγων

* Φλεγμονώδης νόσος της πυέλου

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα μελέτη είχε ως σκοπό να εδραιώσει ότι η σύγκριση των αντικειμενοφόρων SurePath® που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τις διαδικασίες της χειροκίνητης μεθόδου ήταν ευνοϊκή σε σχέση με τις αντικειμενοφόρους που προετοιμάστηκαν χρησιμοποιώντας την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Τα κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι οι αντικειμενοφόροι που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο, είναι συγκρίσιμες σε μορφολογία και ποιότητα με εκείνες που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®.

Τα κλινικά δεδομένα δείχνουν επίσης ότι η διαγνωστική απόδοση της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου είναι η ίδια σε σύγκριση με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Επιπλέον, η επάρκεια των αντικειμενοφόρων που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο δεν διέφερε από εκείνη των αντικειμενοφόρων που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν τη συγκρισιμότητα της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΛΕΙΨΜΑΤΟΣ

Ο πίνακας 21 παρουσιάζει τα αποτελέσματα των κύριων σκοπών. Η αξιολόγηση του βαθμού αποδοχής των αντικειμενοφόρων που παρασκευάστηκαν με κάθε μια από τις μεθόδους, έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια μορφολογίας και ποιότητας που παρουσιάζονται στον πίνακα. Για κάθε κριτήριο, η αναλογία των αποδεκτών αντικειμενοφόρων υπολογίστηκε μαζί με το αντίστοιχο διάστημα εμπιστοσύνης του 95% ακριβώς.

Πίνακας 21 Σύγκριση της συχνότητας και του διαστήματος εμπιστοσύνης (CI) για τα κριτήρια του βαθμού αποδοχής

Μέθοδος προετοιμασίας αντικειμενοφόρου						
	PrepStain®		PrepMate®		Χειροκίνητη μέθοδος	
	Συχνότητα (n/N)	Ακριβές CI 95%	Συχνότητα (n/N)	Ακριβές CI 95%	Συχνότητα (n/N)	Ακριβές CI 95%
	Χρώση	Διάγνωση	Πυρηνική	Κυτταρολογική	Ομαδοποίηση	Κυτταρобрίθεια
Βαθμός αποδοχής	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9926 (400/403)	0.9784, 0.9985	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973
	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9876 (398/403)	0.9713, 0.9960	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999
	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999
	0.9950 (401/403)	0.9822, 0.9994	0.9901 (399/403)	0.9748, 0.9973	1.0000 (403/403)	0.9909, 1.0000
	0.9926 (400/403)	0.9784, 0.9985	0.9975 (402/403)	0.9863, 0.9999	0.9603 (387/403)	0.9363, 0.9771
	0.9305 (375/403)	0.9011, 0.9533	0.9454 (381/403)	0.9185, 0.9655	0.9404 (379/403)	0.9127, 0.9615

Οι συχνότητες του βαθμού αποδοχής της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου, είναι σχεδόν πάντα ίσες ή μεγαλύτερες από εκείνες της μεθόδου PrepStain®. Επιπλέον, τα διαστήματα εμπιστοσύνης του 95% ακριβώς της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου, επικαλύπτουν σε μεγάλο βαθμό εκείνες της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® για κάθε κριτήριο. Με αυτό υπονοείται ότι οι αντικειμενοφόροι που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο έχουν συγκρίσιμη μορφολογία και ποιότητα με εκείνες που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Ως εκ τούτου, η ποιότητα παρασκευής είναι η ίδια τόσο για την εγκεκριμένη μέθοδο όσο και για τις δύο εξεταζόμενες μεθόδους.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΥΜΦΩΝΙΑ

Η ανάλυση αυτή συγκρίνει τις διαγνώσεις στις αντικειμενοφόρους που παρασκευάστηκαν από κάθε μέθοδο. Επειδή τα δεδομένα αυτά προέρχονται από διαιρεμένα δείγματα, οι διαγνωστικές μήτρες που παρουσιάζονται στους πίνακες 22 και 23 βασίζονται στα αντιστοιχισμένα ζεύγη από κάθε εξεταζόμενη μέθοδο προετοιμασίας αντικειμενοφόρων (PrepMate® και χειροκίνητη μέθοδο) σε σύγκριση με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Το ιδανικό θα ήταν να έχουν την ίδια διάγνωση οι αντικειμενοφόροι που προετοιμάστηκαν από τις δύο μεθόδους. Αυτό αντιπροσωπεύεται από τον αριθμό των αντικειμενοφόρων με πανομοιότυπη διάγνωση, ο οποίος εμφανίζεται στην κύρια διαγώνιο κάθε πίνακα.

Το πρώτο μέγεθος της συμφωνίας είναι η αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο και τα αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης του 95% ακριβώς. Το δεύτερο μέγεθος της συμφωνίας προέρχεται από την στατιστική κ, η οποία υπολογίστηκε και εξετάστηκε για κάθε σύγκριση. Ο έλεγχος προσδιορίζει εάν το μέγεθος της συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων μπορεί, από σύμπτωση και μόνο, να είναι μεγαλύτερο από το αναμενόμενο. Λόγω της κατάταξης των παρατηρήσεων, είναι σημαντικότερο να υπάρχουν παρατηρήσεις που βρίσκονται πάνω ή πλησίον της κύριας διαγωνίου. Η σταθμισμένη στατιστική κ προσδίδει περισσότερο βάρος στις παρατηρήσεις που βρίσκονται επάνω ή πλησίον της κύριας διαγωνίου των πινάκων.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΓΓΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ PREPSTAIN® ΚΑΙ PREPMATE®

Στον πίνακα 22, ο αριθμός των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 367 (2+334+8+6+5+11+1) και η αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 0,9107 (367/403) με ακριβή όρια εμπιστοσύνης 95% στα 0,8785 έως 0,9366.

Σε περίπτωση αποκλεισμού από τον πίνακα των μη ικανοποιητικών αντικειμενοφόρων με διαγραφή της πρώτης σειράς και της πρώτης στήλης, παρέμειναν 397 αντικειμενοφόροι. Η αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 0,9194 (365/397) με όρια εμπιστοσύνης 95% στα 0,8881 έως 0,9442.

Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 22 δείχνουν ότι η εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® και η μέθοδος PrepMate® έχουν υψηλότερη αναλογία αντικειμενοφόρων με διαγνωστική συμφωνία, όπως αυτή υποδηλώνεται από την αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο του πίνακα. Επιπλέον, η σταθμισμένη ανάλυση κ υποδηλώνει ότι η συμφωνία ήταν πολύ μεγαλύτερη από ότι εάν αποδίδονταν απλά και μόνο σε σύμπτωση.

Πίνακας 22 Πινακοποίηση διασταύρωσης των διαγνώσεων με τις μεθόδους PrepStain® και PrepMate®

Μέθοδος διάγνωσης PrepStain®										
	Μη ικαν	WNL	BCC-RR	Ατυπία	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Σύνολο
Μέθοδος διάγνωσης PrepMate®	Μη ικαν	2	1	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	15
	Ατυπία	1	3	2	6	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Σύνολο	5	348	12	17	9	11	0	1	403

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΕΓΓΕΚΡΙΜΕΝΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ PREPSTAIN® ΚΑΙ ΤΗΣ ΕΓΓΕΚΡΙΜΕΝΗΣ ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στον πίνακα 23, ο αριθμός των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 353 (3+315+6+10+7+11+1). Η αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 0,8794 (350/398) με όρια εμπιστοσύνης 95% στα 0,8433 έως 0,9097. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 23 δείχνουν ότι η εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® και η χειροκίνητη μέθοδος έχουν υψηλότερη αναλογία αντικειμενοφόρων με διαγνωστική συμφωνία, όπως αυτή υποδηλώνεται από την αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο του πίνακα. Επιπλέον, η σταθμισμένη ανάλυση κ υποδηλώνει ότι η συμφωνία ήταν πολύ μεγαλύτερη από ότι εάν αποδίδονταν απλά και μόνο σε σύμπτωση. Ως εκ τούτου, η διαγνωστική απόδοση είναι η ίδια τόσο για την εγκεκριμένη μέθοδο όσο και για τις δύο εξεταζόμενες μεθόδους.

Σε περίπτωση αποκλεισμού από τον πίνακα των μη ικανοποιητικών αντικειμενοφόρων με διαγραφή της πρώτης σειράς και της πρώτης στήλης, παρέμειναν 398 αντικειμενοφόροι. Η αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο είναι 0,8794 (350/398) με όρια εμπιστοσύνης 95% στα 0,8433 έως 0,9097. Τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 23 δείχνουν ότι η εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® και η χειροκίνητη μέθοδος έχουν υψηλότερη αναλογία αντικειμενοφόρων με διαγνωστική συμφωνία, όπως αυτή υποδηλώνεται από την αναλογία των αντικειμενοφόρων στην κύρια διαγώνιο του πίνακα. Επιπλέον, η σταθμισμένη ανάλυση κ υποδηλώνει ότι η συμφωνία ήταν πολύ μεγαλύτερη από ότι εάν αποδίδονταν απλά και μόνο σε σύμπτωση. Ως εκ τούτου, η διαγνωστική απόδοση είναι η ίδια τόσο για την εγκεκριμένη μέθοδο όσο και για τις δύο εξεταζόμενες μεθόδους.

Πίνακας 23 Πινακοποίηση διασταύρωσης των διαγνώσεων με τη μέθοδο PrepStain® και τη χειροκίνητη μέθοδο

Μέθοδος διάγνωσης PrepStain®										
	Μη ικαν	WNL	BCC-RR	Ατυπία	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Σύνολο
Χειροκίνητη μέθοδος διάγνωσης	Μη ικαν	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	25
	Ατυπία	0	12	4	10	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Σύνολο	5	348	12	17	9	11	0	1	403

ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟΥ

Η επάρκεια των αντικειμενοφόρων αποτιμήθηκε για κάθε μια από τις μεθόδους προετοιμασίας. Τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας έναν έλεγχο McNemar διπλής όψης.¹⁸

Στον πίνακα 24 εμφανίζονται τα αποτελέσματα επάρκειας από τη σύγκριση της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® με τη μέθοδο PrepMate®.

Πίνακας 24 Αποτελέσματα επάρκειας αντικειμενοφόρων των μεθόδων PrepMate® και PrepStain®

Αποτέλεσμα μεθόδου PrepStain®			
Αποτέλεσμα μεθόδου PrepMate	SAT ή SBLB	MH IKAN	
	398	3	
	0	2	
398		5	403

Στον πίνακα 25 εμφανίζονται τα αποτελέσματα επάρκειας από τη σύγκριση της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® με τη χειροκίνητη μέθοδο.

Πίνακας 25 Αποτελέσματα επάρκειας αντικειμενοφόρων της μεθόδου PrepStain® και της χειροκίνητης μεθόδου

Αποτέλεσμα μεθόδου PrepStain®			
Αποτέλεσμα χειροκίνητης μεθόδου	SAT ή SBLB	MH IKAN	
	398	2	
	0	3	
398		5	403

Αυτές οι δύο συγκρίσεις αποκάλυψαν ότι η μέθοδος PrepMate® και η χειροκίνητη μέθοδος δεν διέφεραν από την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain® σε ότι αφορά την επάρκεια των αντικειμενοφόρων.

ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΤΟ ΦΙΑΛΙΔΙΟ

Η TriPath Imaging, μετά την αρχική έγκριση της FDA για το σύστημα PrepStain®, διεξήγαγε μια πολυκεντρική μελέτη του συστήματος PrepStain® όταν χρησιμοποιήθηκε όπως προορίζονταν με τα απευθείας-στο-φιαλίδιο δείγματα. Οι προηγούμενες κλινικές μελέτες εφάρμοσαν τη μέθοδο του διαιρεμένου δείγματος, κατά την οποία το δείγμα αρχικά χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία μιας συμβατικής αντικειμενοφόρου με επιχρίσμα Pap, ενώ το υπόλοιπο δείγμα τοποθετήθηκε στο υγρό συλλογής SurePath® και υποβλήθηκε σε επεξεργασία από το σύστημα PrepStain® για τη δημιουργία της αντικειμενοφόρου SurePath®. Είναι εδραιωμένο ότι στις μελέτες με τον σχεδιασμό του διαιρεμένου δείγματος υπάρχει υποεκτίμηση της πραγματικής απόδοσης της εξέτασης, η οποία προετοιμάζεται από το υπολειπόμενο κυτταρικό υλικό¹².

Η παρούσα μελέτη συνέκρινε την απόδοση των αντικειμενοφόρων SurePath® που παρήχθησαν με δείγματα απευθείας-από το-φιαλίδιο με τα συμβατικά επιχρίσματα Pap. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν με το SurePath, συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από μια ιστορική κοόρτη συμβατικών επιχρισμάτων Pap. Ειδικότερα, η παρούσα μελέτη αξιολόγησε εάν οι αντικειμενοφόροι SurePath® εμφάνιζαν βελτίωση στον εντοπισμό των ενδοεπιθηλιακών βλαβών του πλακώδους επιθηλίου υψηλού βαθμού (high-grade squamous intraepithelial lesions, HSIL), του in-situ αδενοκαρκινώματος και του καρκίνου (HSIL+). Και για τους δύο πληθυσμούς των αντικειμενοφόρων, συλλέχθηκαν όλα τα διαθέσιμα δεδομένα των βιοψιών.

Ο πληθυσμός SurePath® απαρτίζονταν από 58.580 αντικειμενοφόρους που συλλέχθηκαν προοπτικά από 57 κλινικές οι οποίες είχαν μετατραπεί σε ποσοστό σχεδόν 100% από τη συμβατική συλλογή επιχρισμάτων Pap στη συλλογή δειγμάτων SurePath®. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν στις παραπάνω κλινικές, απεστάλησαν σε τρεις κλινικές τοποθεσίες για να υποβληθούν σε επεξεργασία.

Ο συμβατικός πληθυσμός απαρτίζονταν από 58.988 αντικειμενοφόρους από τις ίδιες κλινικές με τις αντικειμενοφόρους SurePath®. Η συλλογή του ιστορικού πληθυσμού ξεκίνησε με τις πλέον πρόσφατες αντικειμενοφόρους προτού γίνει η αλλαγή των κλινικών στο SurePath®, και στη συνέχεια ακολούθησαν οι παλαιότερες αντικειμενοφόροι έως ότου ο αριθμός του πληθυσμού των συμβατικών αντικειμενοφόρων από κάθε κλινική τοποθεσία ήταν περίπου ίσος με τον αριθμό του πληθυσμού των αντικειμενοφόρων SurePath®.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αποκάλυψαν μια συχνότητα εντοπισμού 405/58.580 για τις αντικειμενοφόρους SurePath® σε σύγκριση με τη 248/58.988 για τις συμβατικές αντικειμενοφόρους, με αποτέλεσμα να προκύψουν συχνότητες 0,691% και 0,420%, αντίστοιχως (βλέπε πίνακα 26). Για τις συγκεκριμένες κλινικές τοποθεσίες και τους συγκεκριμένους πληθυσμούς μελέτης, αυτό υποδηλώνει μια αύξηση κατά 64,4% (p<0,00001) στον εντοπισμό των βλαβών HSIL+ στις αντικειμενοφόρους SurePath®.

Πίνακας 26 Σύγκριση των συχνотήτων εντοπισμού με βάση τον τόπο HSIL+

Τόπος	Συμβατική			SurePath®		
	Σύνολο	HSIL+	Επί τοις εκατό (%)	Σύνολο	HSIL+	Επί τοις εκατό (%)
1	41,274	216	0.523	40,735	300	0.736
2	10,421	19	0.182	10,676	78	0.731
3	7,293	13	0.178	7,169	27	0.377
Σύνολο	58,988	248	0.420	58,580	405	0.691

Τόπος	Συμβατική			SurePath®		
	Σύνολο	LSIL+	Επί τοις εκατό (%)	Σύνολο	LSIL+	Επί τοις εκατό (%)
1	41,274	765	1.853	40,735	1501	3.685
2	10,421	96	0.921	10,676	347	3.250
3	7,293	99	1.357	7,169	127	1.772
Σύνολο	58,988	960	1.627	58,580	1975	3.371

Τόπος	Συμβατική			SurePath®		
	Σύνολο	ASCUS+	Επί τοις εκατό (%)	Σύνολο	ASCUS+	Επί τοις εκατό (%)
1	41,274	1,439	3.486	40,735	2,612	6.412
2	10,421	347	3.330	10,676	689	6.454
3	7,293	276	3.784	7,169	285	3.975
Σύνολο	58,988	2,062	3.496	58,580	3,586	6.122

Τόπος	Συμβατική			SurePath®		
	Σύνολο	MH IKAN	Επί τοις εκατό (%)	Σύνολο	MH IKAN	Επί τοις εκατό (%)
1	41,274	132	0.320	40,735	37	0.091
2	10,421	163	1.564	10,676	89	0.834
3	7,293	20	0.274	7,169	4	0.056
Σύνολο	58,988	315	0.534	58,580	130	0.222

Σημείωση: Η διακύμανση μεταξύ των τοποθεσιών στην επίδοση, είναι αναμενόμενη. Κάθε εργαστήριο πρέπει να παρακολουθεί προσεκτικά την ποιότητα της εργασίας του.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Η πλήρης διαδικασία για την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων SurePath® διατίθεται στο εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος PrepStain®.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich[®] System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich[®]: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42: 171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40: 107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40: 496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich[®] specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12: 153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΤΟΠΟΣ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΗΣ

TriPath Imaging[®], Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA (800) 426-2176
TRIPATH-IMAGING[®]

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
Πληροφορίες για το PrepStain[®]: 1-800-426-2176 ή 336-222-9707
Φαξ: 336-222-8819.
Αριθμοί ευρεσιτεχνιών στις ΗΠΑ: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Αριθμοί ευρεσιτεχνιών στον Καναδά: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Αριθμοί ευρεσιτεχνιών στην Ιαπωνία: 2837076, 2781513.
Αριθμοί ευρεσιτεχνιών στην Ευρώπη: 0590504, 0590447, 0590506B.
Εκκρεμούν και άλλες ξένες ευρεσιτεχνίες και στις ΗΠΑ.

MDCI Ltd
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL UK



Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος

©2008 TriPath Imaging, Inc. Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

KULLANIM AMACI

PrepStain® Sistemi (eski adı AutoCyte® PREP Sistemi) sıvı bazlı ince katmanlı hücre hazırlama prosedürüdür. PrepStain® Sistemi, geleneksel jinekolojik Pap smearlerinin yerine geçmesi amaçlanan SurePath® slaytlarını üretir. SurePath® slaytlarının (eski adı AutoCyte® PREP slaytları) The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses kaynağında tanımlandığı şekilde servikal kanser, prekanseröz lezyonlar, atipik hücreler ve diğer tüm sitolojik kategorilerin tarama ve saptamasında kullanımı amaçlanmaktadır.^{1, 19}

PROSEDÜR ÖZETİ VE AÇIKLAMASI

PrepStain® Sistemi, servikal hücre numunesi sıvı süspansiyonunu, diyagnostik hücre grupları sağlayarak farklı şekilde boyalı, homojen ince hücre katmanına dönüştürür.²⁻⁹ Proses, Bethesda Sistemi tarafından tanımlandığı şekilde rutin sitoloji taraması ve kategorizasyonunda kullanılmak üzere SurePath® slaytlarının oluşturulması için hücre koruma, randomizasyon, teşhis materyalinin yoğunlaştırılması, pipetleme, sedimentasyon, boyama ve lamele yerleştirme işlemlerini içerir.¹ SurePath® slaytı, 13 mm çapında bir daire içinde iyi korunmuş boyalı hücre popülasyonu oluşturur. Havayı kurutan yapılar, engelleyici, üst üste binen hücre maddeleri ve çöpler büyük oranda elimine edilir. Akyuvarların sayısı önemli oranda düşürülerek epitelyal hücrelerin, teşhis için yararlı hücrelerin ve enfeksiyöz organizmaların daha kolay görüntülenmesi sağlanır.

SurePath® prosesi, jinekolojik örneklerin toplanması için çıkarılabilen başlıklı süpürge türü numune alma cihazı (örn. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss – Hollanda) veya endoservikal fırça/plastik spatül kombinasyonu (örn. Cytobrush® Plus GT ve Pap Perfect® spatül, Medscand (ABD) Inc., Trumbull, CT) kullanarak kalifiye sağlık personeliyle başlar. Numune alma cihazlarıyla toplanan hücreleri cam bir slayt üzerine yaymak yerine, numune alma cihazlarının başlıkları koldan çıkarılır ve SurePath® Koruyucu Sıvı flakonuna konur. Flakonun kapağı kapatılır, etiketlenir ve işlenmek üzere uygun dokümantasyonla birlikte laboratuvara gönderilir. Numune alma cihazlarının başlıkları toplanan numuneyi içeren koruyucu flakondan asla çıkarılmaz.

Laboratuvarda, korunan numune vorteks cihazıyla karıştırılır ve ardından PrepStain® Dansite Reaktifine aktarılır. Dansite Reaktifile santrifüjlü sedimentasyondan oluşan yoğunlaştırma adımı, diyagnostik olmayan çöpler ve fazla enflamatuvar hücreler numuneden kısmen uzaklaştırılır. Santrifüj işleminden sonra paletli hücreler tekrar bekletilir, karıştırılır ve SurePath® PreCoat slaytına monte edilmiş PrepStain® Durultma Odasına aktarılır. Hücreler ağırlık ile çöktürülür, daha sonra modifiye edilmiş Papanicolaou boyama prosedürüyle boyanır. Slayt, ksilen veya ksilen yerine kullanılan bir maddeyle temizlenir ve lamele yerleştirilir. 13 mm çapında bir daire içinde sunulan hücreler, gerekli diğer hasta bilgilerine erişimi olan eğitimli sitoteknologlar ve patolojiler tarafından mikroskopla incelenir.

KISITLAMALAR

- PrepStain® Sistemini kullanılan preparatlar için jinekolojik numuneler, imalatçı tarafından sağlanan standart toplama prosedürüne göre, çıkarılabilen başlıklı süpürge türü numune alma cihazı veya endoservikal fırça/plastik spatül kombinasyonu kullanılarak toplanmalıdır. Tahta spatüller PrepStain® Sistemiyle kullanılmamalıdır. Çıkarılabilir olmayan endoservikal fırça/plastik spatül kombinasyonları PrepStain® Sistemiyle kullanılmamalıdır.
- SurePath® slaytlarının üretimi ve değerlendirilmesi için yetkili kişilerden eğitim almak bir önkoşuldur. Sitoteknolog ve patolojiler SurePath® slaytları üzerinde morfoloji değerlendirmesi için eğitim almalıdır. Eğitim, yeterlilik sınavını kapsayacaktır. Laboratuvar müşterileri eğitici slayt ve test setlerinin kullanımı hakkında bilgilendirilecektir. TriPath Imaging®, Inc. ayrıca her müşterinin kendi hasta popülasyonundan eğitim slaytlarının hazırlanmasında destek sağlayacaktır.
- PrepStain® Sisteminin uygun performans göstermesi, PrepStain® Sistemiyle yalnızca TriPath Imaging tarafından desteklenen veya TriPath Imaging tarafından tavsiye edilen malzemelerin kullanılmasını gerektirir. Kullanılan malzemeler kurumsal ve resmi düzenlemelere uygun olarak doğru şekilde atılmalıdır.
- Tüm malzemeler yalnızca tek kullanımlıktır ve tekrar kullanılamaz.

Reaktifler



İn Vitro Diyagnostik kullanıma yönelik. Yalnızca laboratuvarda kullanıma yönelik.

Uyarılar



SurePath® Koruyucu Sıvı sulu denatüre etanol çözeltisi içerir. Karışım küçük miktarlarda metanol ve izopropanol içerir. Yutmayın.



PrepStain® Dansite Reaktifli sodyum azit içerir. Yutmayın. Sodyum azit, kurşun veya bakır tesisat ile reaksiyona girerek son derece patlayıcı metal azitler oluşturabilir. Atmadan önce azitlerin birikmesini önlemek için bol suyla yıkayın. Daha fazla bilgi için, bkz. Hastalıklar Kontrol Merkezleri tarafından yayımlanan DHHS (NIOSH) yayını No. 78-127 Current 13. Bkz. web sitesi: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.

PrepStain® EA/OG kombinasyonu sitoloji boyası, alkol içerir. Yutulması halinde zehirleyicidir. Buharını solumayın. Havalandırmanın yeterli olduğu bir ortamda kullanın. Cilt ve göz temasından kaçının. Son derece yanıcıdır.



ÖNEMLER

- İyi laboratuvar uygulamaları izlenmelidir ve PrepStain® Sisteminin kullanımı için tüm prosedürlere uyulmalıdır.
- Reaktifler oda sıcaklığında (15° ile 30°C) saklanmalı ve uygun performans sağlanması için son kullanma tarihlerinden önce kullanılmalıdır. Sitolojik numuneler olmadan SurePath® Koruyucu Sıvı için saklama koşulları imal tarihinden itibaren oda sıcaklığında (15° ile 30°C) 36 aya kadardır. Sitolojik numuneler içeren SurePath® Koruyucu Sıvı için saklama limiti soğutucu koşullarında (2° ile 10°C) 6 ay veya oda sıcaklığında (15° ile 30°C) 4 haftadır.
- Siçramasını veya aerosollerin oluşumunu önleyin. Kullanıcılar uygun el, göz ve giysi koruması kullanmalıdır.
- SurePath® Koruyucu Sıvı, şunlara karşı antimikrobiyal etkinlik açısından test edilmiş ve etkili olduğu saptanmıştır: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis ve Aspergillus niger. Her bir türün 10⁶ CFU/ml'si ile inoküle edilen SurePath® Koruyucu numuneleri standart koşullar altında 14 gün (Mycobacterium tuberculosis için 28 gün) enkübyasyondan sonra hiçbir çoğalma göstermemiştir. Ancak, biyolojik sıvıların güvenli kullanımına yönelik genel önlemler her zaman uygulanmalıdır.
- PrepStain® Sistemi Kullanıcı Kılavuzunda belirtilen önerilen prosedürlerin izlenmemesi cihazın performansını olumsuz etkileyebilir.

GEREKLİ MALZEMELER

Reaktifler, bileşenler ve aksesuarlara ilişkin tam bilgiler için PrepStain® Sistemi Kullanım Kılavuzuna bakın. Aşağıda listelenen materyallerin tümü SurePath® slaytlarını manuel olarak (PrepStain® cihazını kullanmadan) hazırlarken gerekmektedir.

Sağlanan Malzemeler

- PrepStain® Cihazı
- SurePath® Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu (SurePath® Koruyucu Sıvı içerir)
- Çıkarılabilir Başlıklı Servikal Numune Alma Cihaz(lar)ı
- PrepStain® Dansite Reaktifi
- PrepStain® Şırınga Pipetleri
- PrepStain® Durultma Odaları
- Sitoloji Boyama Kiti
- SurePath® PreCoat slaytları
- Santrifüj Tüpleri
- Slayt ve Tüp Rafı
- Atılabilir Aktarma ve Aspiratör Uçları

Gerekli Olan Fakat Sağlanmayan Malzemeler

- Vorteks Karıştırıcı
- Deiyonize Su (pH 7,5 ile 8,5)
- İzopropanol ve Reaktif Sınıfı Alkol
- Temizlik Ajansı, Sabitleme Ortamı ve Cam Lameller

Saklama

Sitolojik numuneler olmadan SurePath® Koruyucu Sıvı için saklama koşulları imal tarihinden itibaren oda sıcaklığında (15° ile 30°C) 36 aya kadardır.

Sitolojik numuneler içeren SurePath® Koruyucu Sıvı için saklama limiti soğutucu koşullarında (2° ile 10°C) 6 ay veya oda sıcaklığında (15° ile 30°C) 4 haftadır.

TANISAL YORUMLAMA VE PREPARAT YETERLİLİĞİ

TriPath Imaging tarafından yetkilendirilmiş PrepStain® Sistemi ve SurePath® slaytları üzerinde kullanıcı eğitiminden sonra, şu anda sitoloji laboratuvarlarında geleneksel Pap smearleri için kullanılan Bethesda Sistemi sitolojik diyagnostik kriterleri SurePath® slaytlarına uygulanabilir.¹ Bethesda 2001 Raporlama Sisteminde tavsiye edilen yeni kılavuzlarda sıvı bazlı preparatlara değinilmekte ve özel olarak bu preparatlar için uygun selülaritenin nasıl belirleneceği açıklanmaktadır. Anormal hücrelerin yokluğunda, aşağıdaki durumlardan biri veya birkaçı görülüyorsa preparat tatmin edici kabul edilmez:

(3) Diyagnostik hücrelerin sayısı yeterli değilse (her preparatta 5.000'den az skuamöz epitel hücre). Aşağıda SurePath® slaytlarında iyi korunmuş skuamöz epitel hücrelerin sayısını hesaplama yönelik tavsiye edilen prosedürler verilmiştir:

- Taramada kullanılan her mikroskop modeli için, imalatçının mikroskop kılavuzunu inceleyin veya tercih edilen okülerle 40x bir objektif kullanarak görüş sahası belirlerken mikroskop imalatçısına danışın. Alternatif olarak, hemositometre veya benzer mikroskobik slayt ölçüm skalası kullanarak Saha Alanını hesaplayın (Saha Alanı = πr^2 - r, alanın yarıçapıdır).
- 40x bir objektif alanı başına minimum ortalama hücre sayısı, SurePath® slaytlarının yaklaşık 130 mm² lik hücre birikimi alanının spesifik mikroskobun saha alanına bölünmesiyle belirlenir. Daha sonra elde edilen sayı minimum 5.000 hücreye bölünür. Elde edilen sayı, 40x bir objektifin görme alanında epitel hücrelerin tavsiye edilen yeterli minimum ortalama sayısıdır. Bu sayıyı kaydederek sitoteknologlar tarafından kullanılan rutin referans olarak saklayın. 13 mm'lik bir preparat için alan başına düşen hücrelerin yaklaşık sayısını belirleyen Bethesda 2001 kılavuzları.

- Preparat çapının merkezi boyunca yatay ve dikey olarak minimum on alan sayılmalıdır.
- Selülaritenin değerlendirilmesinde bir uygulama yolu olarak, boyanan preparatın görsel dansisinin makroskopik değerlendirmesi preparat üretimi çalışmalarının yeterliliğini kontrol etmede kullanılabilir. Ancak, tarama prosesi sırasında sitoteknologlar tarafından gerçekleştirilen mikroskopik değerlendirmenin yerine geçecek bir işlem bulunmamaktadır.

(4) Hücre bileşenlerinin %75 veya daha fazlası enflamasyon, kan, bakteri, mukoza veya slaytın sitolojik yorumunu engelleyen yapı tarafından gizlenir.

Her türlü anormal veya şüpheli tarama gözlemleri yeniden inceleme ve tanı için patologa gönderilmelidir. Patolog tanı için önemli her tür sellüler morfolojik değişikliği dikkate almalıdır.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ: KLİNİK ÇALIŞMALAR RAPORU

İLK SPLIT-NUMUNE ÇALIŞMASI

TriPath Imaging, PrepStain® Sistemiyle üretilen SurePath® slaytlarından elde edilen diyagnostik sonuçları geleneksel olarak hazırlanan Pap smirleri ile karşılaştırmak amacıyla birden çok merkezde prospektif, maskeli, split-numune, ikili eşleştirilmiş klinik araştırma gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın amacı çeşitli hasta popülasyonlarında ve laboratuvar ortamında servikal kanser, prekanseröz lezyonlar ve atipik hücrelerin saptanmasında geleneksel Pap smirlerine kıyasla SurePath® performansını değerlendirmektir. Her iki preparat için yeterlilik de değerlendirilmiştir.

Servikal Sitoloji Cihazlarına yönelik FDA'nın "Points to Consider" belgesinin¹⁰ tavsiyelerine uyarak, ilk olarak geleneksel Pap smirlerinin her biri hazırlanmış, ardından süpürge türü numune alma cihazında kalan kalıntı örneği SurePath® Korumucu Sıvı Toplama Flakonuna aktarılmıştır.

Laboratuvara gönderildikten sonra, korunmuş her bir hücre süspansiyonu PrepStain® Sistemi protokolüne göre işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen SurePath® slaytı ve eşleşen Pap smiri slaytı manuel olarak taranmış ve Bethesda Sistemiyle tutarlı diyagnostik kategoriler kullanılarak bağımsız olarak teşhis edilmiştir. Her merkezde, bir patoloğ tüm anormal slaytları değerlendirmiştir.

Shatzkin¹¹ tarafından açıklanan yöntemle tutarlı olarak, bu çalışmada atanan bir sevk merkezinde her bir vaka için diyagnostik "gerçeği" sağlamak amacıyla tüm merkezlerden maskeli bir biçimde elde edilen tüm anormal ve tutarsız vakaları, onarım vakalarını ve normal vakaların %5'ini gözden geçiren bağımsız bir referans patoloğ kullanılır.

HASTA ÖZELLİKLERİ

Çalışmada yer alan kadınların yaşları 16 ila 87 arasında değişmektedir; bunların 772'si postmenopozal dönemdedir. Çalışmada temsil edilen 8.807 hastadan 1.059'unda geçmişte anormal Pap smiri hikayesi vardır. Çalışılan hasta popülasyonunun tamamı aşağıdaki ırk gruplarından oluşmaktadır: Kafkas (%44), Siyah (%30), Asyalı (%12), Hispanik (%10), Yerli Amerikalı (%3) ve Diğer (%1).

Hatalı dokümantasyon, 16 yaşın altındaki hastalar, histerektomi olan hastalar ve sitolojik olarak tatmin edici olmayan ve yetersiz örnekler çalışma dışı bırakılmıştır. Yüksek risk taşıyan, seyrek olarak taranan hastalar ve sevk hastalarına ulaşılarak mümkün olduğunca çok servikal kanser ve prekanseröz hastalık vakası çalışmaya dahil edilmeye çalışılmıştır.

Toplam 10.335 vakadan 9.046'sı kabul edilmiş ve sekiz farklı çalışma merkezinde değerlendirilmiştir. 9.046 vakadan 8.807'si preparat yeterliliğine yönelik Bethesda Sistemi gerekliliklerini karşılamıştır ve her iki preparatın tam teşhisi için kullanılabilir durumdadır.

ÇALIŞMA SONUÇLARI

Klinik deneyin amacı PrepStain® Sistemiyle üretilen SurePath® slaytlarının performansını geleneksel olarak hazırlanan Pap smirleri ile karşılaştırmaktır. Her iki preparat tipi için slaytlar Bethesda Sistemi kriterlerine göre sınıflandırılmıştır. Çalışma protokolü geleneksel Pap smirlerinin lehine önyargılıdır çünkü geleneksel Pap smiri her zaman ilk olarak hazırlanmış, böylece SurePath® slaytını süpürge türü cihazda kalan kalıntı materyalle sınırlamıştır (numunenin bu kısmı normalde atılmış olacaktı).¹² SurePath® testinin kullanım amacı direct-to-vial bir uygulamadır; burada toplanan tüm hücreler PrepStain® Sistemi için kullanılır olacaktır.

Manuel olarak okurken SurePath® ve geleneksel Pap smirlerinin hassasiyetlerini karşılaştırmak için, referans patoloğ tarafından vakaların anormallik düzeyi belirlenir ve çalışma merkezlerinde yapılan tanımlarla karşılaştırılır. Referans tanı bağımsız referans patoloğ tarafından her iki slayt preparatının en anormal tanısına dayanmaktadır. Bu sonuç, SurePath® slaytlarının PrepStain® Sistemi preparatına karşı geleneksel Pap smiri preparatı kullanılarak merkezlerdeki sonuçların karşılaştırılması için "gerçek" tanı veya referans değer olarak kullanılmıştır. Slayt preparatına yönelik iki yöntemin hassasiyetinin eşdeğer olduğuna dair sıfır hipotezi ikili veriler için McNemar chi-kare testi kullanılarak test edilmiştir.¹³ Bu istatistiksel testte, iki preparat yöntemine yönelik tutarsız sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Tablo 1'de diyagnostik tedavi kategorileri için (Normal Limitler Dahilinde (WNL), Önemli Belirsiz Atipik Skuamöz Hücreler/Önemi Belirsiz Atipik Glandüler Hücreler (ASCUS/AGUS), Düşük Dereceli Skuamöz İntraepitelyal Lezyonlar (LSIL), Yüksek Dereceli Skuamöz İntraepitelyal Lezyonlar (HSIL) ve Kanser (CA)) SurePath® slaytlarına karşı Geleneksel slaytlara yönelik tüm merkezlerdeki sonuçların doğrudan karşılaştırması sunulmaktadır.

Tablo 1 İlk Split-Numune Çalışması: 8,807 Eşleştirilmiş Numune — Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması — Referans Patoloğ Yok

Merkeze göre Sonuçlar								
Merkez No.	Slayt Tipi	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Toplam
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1.514	47	4	81	24	0	1.670
	CN	1.560	33	6	40	31	0	1.670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1.302	60	2	19	5	0	1.388
	CN	1.326	37	2	19	4	0	1.388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1.272	179	6	83	35	1	1.576
	CN	1.258	209	9	68	30	2	1.576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1.227	61	3	86	44	2	1.423
	CN	1.209	57	0	94	61	2	1.423
Toplam	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®

CN = Geleneksel

Tablo 2'de tüm diyagnostik tedavi kategorileri için Geleneksel Pap smiri preparatına karşı SurePath® preparatı yönteminin tüm merkezlerdeki sonuçların doğrudan bir karşılaştırması sunulmaktadır.

Tablo 2 İlk Split-Numune Çalışması: 8,807 Eşleştirilmiş Numune
Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması —Referans Patoloğ Yok

Geleneksel olarak Hazırlanan Pap Smiri								
	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Toplam	
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	WNL	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Toplam	7.768	531	39	271	177	21	8.807

Tablo 1 ve Tablo 2'de hiçbir bağımsız referans patoloğ sonucu yansıtılmamaktadır.

Tablo 3 İlk Split-Numune Çalışması: Referans Yöntemle ASCUS/AGUS olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
	Hata	113	205	318
		180	229	409
		293	434	727

Başarı = ASCUS/AGUS

Hata = WNL ve Reaktif/Reparatif

McNemar Testinin Sonucu: $\chi^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$

Geleneksel Slayt Hataları: 205

SurePath® Slaytı Hataları: 180

Tablo 3'te referans patoloğ tarafından ASCUS veya AGUS olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Bu değerlendirme, split-numune çalışma tasarımıyla yöntemlerin hassasiyetini değerlendirmek için tutarsız hataların analizine olanak sağlamaktadır. Hatalar, WNL ve Reaktif/Reparatif kapsamaktadır. McNemar testi ile belirlenen p-değeri 0,05'i aştığından SurePath® ve geleneksel Pap smiri sonuçları eşdeğerdir.

Tablo 4 İlk Split-Numune Çalışması: Referans Yöntemle LSIL olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		140	63	
SurePath® Slaytı	Hata	54	86	
		194	149	

Başarı = LSIL

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ve ASCUS/AGUS

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Geleneksel Slayt Hataları: 63

SurePath® Slaytı Hataları: 54

Tablo 4'te referans patoloğ tarafından LSIL olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif ve ASCUS/AGUS'u kapsamaktadır. ASCUS/AGUS'ta olduğu gibi, split-numune çalışmasında iki yöntemin hassasiyeti 0,05'i aşan p-değeriyle istatistiksel olarak eşdeğerdir.

Tablo 5 İlk Split-Numune Çalışması: Referans Yöntemle HSIL+ olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi (LSIL hata değildir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		160	28	
SurePath® Slaytı	Hata	36	38	
		196	66	

Başarı = HSIL+

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ve ASCUS/AGUS

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Geleneksel Slayt Hataları: 28

SurePath® Slaytı Hataları: 36

Tablo 5'te referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Bu karşılaştırmada, LSIL bir hata olarak değil tutarsızlık olarak kabul edilmiştir.^{10,14,15} Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif ve ASCUS/AGUS'u kapsamaktadır. Tutarsız hataların hassasiyet analizi split-numune çalışmasında yöntemlerin istatistiksel eşdeğerliğini göstermiştir.

Tablo 6 İlk Split-Numune Çalışması: Kanser Vakaları için Tutarsız Hata Analizi (HSIL hata değildir; LSIL hata kabul edilir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		19	2	
SurePath® Slaytı	Hata	5	1	
		24	3	

Başarı = Kanser

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Geleneksel Slayt Hataları: 2

SurePath® Slaytı Hataları: 5

Tablo 6'da referans yöntemle kanser olduğuna karar verilen vakalara ilişkin sonuçlar (tüm merkezlerin) gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL'yi kapsamaktadır. Tutarsız hataların hassasiyet analizi yöntemlerin istatistiksel eşdeğerliğini göstermiştir. Bu 27 kanser vakası yeniden değerlendirme çalışmasına dahil edilmiştir. Bu veriler Tablo 9'da bulunabilir.

Tablo 7 İlk Split-Numune Çalışması: Referans Yöntemle HSIL+ olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi (LSIL bu analizde hata kabul edilmiştir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		94	33	
SurePath® Slaytı	Hata	67	68	
		161	101	

Başarı = (HSIL+)

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Geleneksel Slayt Hataları: 33

SurePath® Slaytı Hataları: 67

Tablo 7'de referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL'yi kapsamaktadır. Orijinal çalışma protokollüyle¹⁰ tutarlı olmasa da, yöntemlerin istatistiksel karşılaştırması gerçekleştirilmiştir; burada tek bir bağımsız referans patoloğ tarafından LSIL, HSIL+ olarak belirlenen bir vakaya karşı diyagnostik hata olarak kabul edilmiştir. Diyagnostik hassasiyetlerin bu istatistiksel karşılaştırmasında, LSIL önemsiz bir tutarsızlık yerine hata kabul edildiğinde, PrepStain® Sistemiyle hazırlanan SurePath® slaytları, split-numune çalışmasında HSIL+ anormalliğinin saptanması için geleneksel olarak hazırlanan Pap smirlerine eşdeğer olmayacaktır.

HSIL+ VAKALARININ MASKELİ YENİDEN DEĞERLENDİRMESİ

Sonuçların preparat kalitesi veya yorumun subjektifliğinden etkilenip etkilenmediğini belirlemek için yeni bir değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Orijinal çalışmada HSIL+ olarak tanı konulan 262 vakayı değerlendirmek için, Bethesda Sisteminin diyagnostik grupları arasındaki tutarlı yorumu vurgulamak amacıyla tayin edilen sitoloji uzmanlarına yönelik yeni bir eğitim uygulandıktan sonra ek bir değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Bu HSIL+ vakaları, aynı split numune protokollü kullanılarak hazırlanan toplam 2.438 örneği kapsayan yeniden değerlendirmenin bir parçası olarak yeniden maskelenmiştir. İki preparata yönelik çalışma merkezi sonuçları daha sonra yeni bir referans değerle karşılaştırılmıştır; bu değer en anormal sitoloji tanısına göre üç bağımsız referans patoloğdan en az ikisinin uyuşmasını gerektirmektedir.

Yeniden değerlendirmeye yönelik referans proseste, tutarsız vakalardan (PrepStain® ile hazırlanan SurePath® slaytları ve geleneksel olarak hazırlanan slaytlar) elde edilen her iki slayt preparatı ikinci bir sitoteknoloğ tarafından yeniden taranmış ve yeni tanımlanan anormallikler ilk taramadan olanlara eklenmiştir. Üç referans sitopatoloğ daha sonra maskeli bir protokol kullanarak tüm tutarsız vakaları değerlendirmiştir. Bu daha zorlayıcı referans yöntem, orijinal çalışmadaki HSIL+ referans vakalarının sayısını 262'den yeniden değerlendirmede 209'a düşürmüştür. 53 vaka farkı aşağıdaki gibi açıklanabilir: 48 vakaya daha zorlayıcı referans yöntemle LSIL veya daha az şiddetli olarak tanı konmuştur; 3 vakanın yeterliliği yeniden değerlendirmenin ardından tatmin edici kabul edilmemiştir; kalan 2 vaka ise maskeli yeniden değerlendirme çalışmasında değerlendirilmek için uygun değildir.

Tablo 8 Yeniden Değerlendirme Çalışması: Üç Bağımsız Referans Patoloğ Kapsayan Daha Zorlayıcı Referans Kriterleri ile Yeniden Değerlendirilen 209 Orijinal HSIL+ Vakasının Tutarsız Hata Analizi

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		153	26	
SurePath® Slaytı	Hata	24	6	
		177	32	

Başarı = HSIL+

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Geleneksel Slayt Hataları: 26

SurePath® Slaytı Hataları: 24

Tablo 8'de referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL'yi kapsamaktadır. Bu karşılaştırmada LSIL, bağımsız referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak belirlenen vakaya karşı diyagnostik hata kabul edilmiştir. Diyagnostik hassasiyetlerin karşılaştırması, iki yöntem arasında istatistiksel eşdeğerlik göstermiştir.

Tablo 9 Yeniden Değerlendirme Çalışması: Kanser Vakaları için Tutarsız Hata Analizi (HSIL hata değildir; LSIL hata kabul edilir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Başarı	Hata	
		32	3	
SurePath® Slaytı	Hata	3	0	
		35	3	

Başarı = Kanser

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Geleneksel Slayt Hataları: 3

SurePath® Slaytı Hataları: 3

Tablo 9'da referans yöntemle kanser olduğuna karar verilen vakalara ilişkin sonuçlar (tüm merkezlerin) gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL'yi kapsamaktadır. Bir hata LSIL olarak yorumlanmadan kaynaklanmıştır. Diğer tüm hatalar slaytların ASCUS/AGUS veya WNL olarak yorumlanmasını kapsamaktadır. Tutarsız hataların hassasiyet analizi yöntemlerin istatistiksel eşdeğerliğini göstermiştir.

Maskeli yeniden değerlendirme, orijinal HSIL+ numunelerini yeniden maskelemek için kullanılmış 2097 yeni vakayı içermiştir. Bu yeni vakalardan elde edilen preparatların analizi ve karşılaştırması aşağıdaki Tablo 10'da verilmektedir.

Tablo 10 Yeniden Değerlendirme Çalışması: 2097 Doğrudan Merkez Sonuçlarının Karşılaştırması - Referans Patolog Yok

		Geleneksel olarak Hazırlanan Pap Smiri						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Toplam
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	WNL	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Toplam	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Yukarıda açıklanan 2097 yeni vakadan 77'sine referans patologlar tarafından HSIL+ tanısı konmuştur. Tablo 11'de 77 HSIL+ vakasına yönelik hassasiyet analizi sunulmaktadır.

Tablo 11 Yeniden Değerlendirme Çalışması: Referans Yöntemle HSIL+ olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Merkezlerdeki Sonuçların Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi (LSIL bu analizde hata kabul edilmiştir)

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt		
		Başarı	Hata	
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	25	21	46
	Hata	21	10	31
		46	31	77

Başarı = HSIL+

Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Geleneksel Slayt Hataları: 21

SurePath® Slaytı Hataları: 21

Tutarsız hataların Tablo 11'deki analizi aynı sayıdaki HSIL+'nın her iki preparat yönteminde de eksik olduğunu göstermektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL'yi kapsamaktadır. İstatistiksel test, LSIL, HSIL+ referans değerine karşı hata kabul edildiğinde bile split-numune tasarımı iki yöntem arasında eşdeğerlik kanıtlanmıştır.

Tablo 12'de tüm merkezler için benign bulguların tanımlayıcı tanıları özetlenmektedir.

Tablo 12 İlk Split-Numune Çalışması: Benign Hücresel Değişikliklerin Özeti

Tanımlayıcı Tanı (Hastaların Sayısı: 8.807)	PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt	
	N	%	N	%
Benign Hücresel Değişiklikler				
*Enfeksiyon:				
<i>Candida</i> türleri	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> türleri	6	0,1	2	<0,1
Bakteriler (diğer)	52	0,6	191	2,2
**Reaktif Reparatif Değişiklikler	424	4,8	319	3,6

* Yukarıdaki Enfeksiyon kategorisi için, enfeksiyöz ajanlara yönelik gözlemler rapor edilmektedir. Vaka başına birden fazla organizma sınıfları temsil edilebilir.

** Reaktif reparatif değişiklikler, skuamöz, skuamöz metaplastik veya kolumnar epitel hücreleri içeren tipik onarım yanı sıra enfeksiyon, atrofik vajinit, radyasyon ve IUD kullanımı ile ilişkilendirilen reaktif değişiklikleri içerir.

Toplam 8.807 vaka hem deney merkezlerinden, hem de referans merkezlerden “tatmin edici olmayan” hiçbir değerlendirme içermemiştir. Ek 239 numunenin, preparatlardan biri veya her ikisi üzerinde, ya deney merkezinde ya da referans merkezde veya her ikisinde de “tatmin edici olmadığı” kaydedilmiştir. Tatmin edici olmayan 239 vakadan 151'i yalnızca geleneksel slaytlarda; 70'i yalnızca SurePath® slaytlarda ve 18'i hem geleneksel, hem de SurePath® slaytlarda kaydedilmiştir. Tatmin edici olmayan tüm vakalar, Bethesda Sistemi kategorileri ile diyagnostik karşılaştırmanın dışında bırakılmış, ancak preparat yeterliliğine yönelik karşılaştırmaya tekrar dahil edilmiştir.

Tablo 13 ila 16'da tüm merkezlere yönelik preparat yeterliliği sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 13 İlk Split-Numune Çalışması: Preparat Yeterliliği Sonuçları

Preparat Yeterliliği (Hastaların Sayısı: 9.046)	PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt	
	N	%	N	%
Tatmin edici	7.607	84,1	6.468	71,5
Tatmin Edici Ancak Şunlarla Sınırlı:	1.385	15,3	2.489	27,5
Endoservikal Bileşen Yok	1.283	14,2	1.118	12,4
Havayı Kurutan Yapı	0	0	17	0,2
Kalın Smir	1	< 0,1	0	0
Engelleyici Kan	53	0,6	121	1,3
Engelleyici enflamasyon	102	1,1	310	3,4
Yetersiz Skuamöz Epitel Hücreler	4	< 0,1	7	0,1
Sitoliz	10	0,1	11	0,1
Klinik Hikaye yok	0	0	0	0
Belirtilmemiş	60	0,7	1.018	11,3
Değerlendirme için Tatmin Edici Değil:	54	0,6	89	1,0
Endoservikal Bileşen Yok	42	0,5	42	0,5
Havayı Kurutan Yapı	0	0	0	0
Kalın Smir	0	0	2	< 0,1
Engelleyici Kan	7	0,1	6	0,1
Engelleyici enflamasyon	6	0,1	6	0,1
Yetersiz Skuamöz Epitel Hücreler	6	0,1	0	0
Sitoliz	0	0	1	< 0,1
Klinik Hikaye yok	0	0	0	0
Belirtilmemiş	37	0,4	32	0,5

Not: Bazı hastalarda birden çok alt kategori bulunmaktadır.

Ek tatmin edici olmayan vakalar referans patolog tarafından belirlenmiştir; tatmin edici olmayan sonuçların toplam sayısı Tablo 15'te yansıtılmaktadır. Tabloda, SAT = Tatmin Edici, SBLB = Tatmin Edici ama Şunlarla Sınırlı (bazı belirtilmiş koşullar) ve UNSAT = Tatmin Edici Olmayan.

Tablo 14 İlk Split-Numune Çalışması: Tüm Klinik Çalışma Merkezleri Preparat Yeterliliği Sonuçlarının Özeti

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt		
		SAT	SBLB	UNSAT
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	SAT	5.868	1.693	46
	SBLB	579	772	34
	UNSAT	21	24	9
		6.468	2.489	89

UNSAT: McNemar Testinin Sonucu $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$

SBLB: McNemar Testinin Sonucu $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

Tablo 14'te her iki preparat yöntemine ilişkin preparat yeterliliği karşılaştırma sonuçları gösterilmektedir. Geleneksel slaytlara kıyasla SurePath® slaytlarıyla anlamlı oranda daha az Tatmin Edici Olmayan ve SBLB vaka mevcuttur.

Tablo 15 İlk Split-Numune Çalışması: Klinik Deney Merkezlerinden ve Referans Merkezden Tatmin Edici Olmayan Sonuçların Karşılaştırması

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt	
		SAT	UNSAT
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	SAT	8.807	151
	UNSAT	70	18
		8.877	169

McNemar Testinin Sonucu $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

Tablo 15'te hem deney merkezlerinde hem de referans merkezde yapılan değerlendirmelerden elde edilen tatmin edici ve tatmin edici olmayan preparatların karşılaştırması gösterilmektedir. SurePath® slaytları geleneksel slaytlara kıyasla tatmin edici olmayan vakalar açısından istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir.

Table 276 Merkeze göre Preparat Yeterliliği Sonuçları—Bulunmayan Endoservikal Bileşen (ECC) için SBLB Oranları

Merkez	Vakalar	SurePath® SBLB ECC'ler yok N (%)	Geleneksel SBLB ECC'ler yok N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Tüm Merkezler	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Endoservikal hücrelerin saptanması (Tablo 16) farklı deney merkezlerine göre farklılık göstermektedir. Genel olarak, geleneksel Pap smiri ile SurePath® yöntemleri arasında endoservikal hücre saptama açısından %1,8 farklılık vardır; bu oran split-numune metodolojisini içeren önceki çalışmalardakine benzerdir.^{16,17}

PrepStain® Sistemiyle üretilen SurePath® slaytları çeşitli hasta popülasyonlarında ve laboratuvar ortamında yapılan split-numune karşılaştırmalarında geleneksel Pap smirleri ile benzer sonuçlar sergilemektedir. Bunun yanı sıra, geleneksel Pap smirlerine kıyasla SurePath® slaytlarıyla anlamlı oranda daha az Tatmin Edici Olmayan ve SBLB vaka mevcuttur. Bu nedenle, SurePath® slaytı, atipik hücrelerin, prekanseröz lezyonların, servikal kanser ve Bethesda Sistemi tarafından tanımlanan diğer tüm sitolojik kategorilerin saptanmasında geleneksel Pap smirlerinin yerine kullanılabilir.

PREPMATE® VE MANUEL YÖNTEMLER KULLANILARAK SUREPATH® SLAYT PREPARATININ DEĞERLENDİRİLMESİ

TriPath Imaging, SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik FDA onaylı prosedürde yapılan iki modifikasyonu değerlendirmek üzere prospektif, çok merkezli bir klinik deney gerçekleştirmiştir. SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik onaylı proste yapılan modifikasyonlar aşağıdaki gibidir:

- PrepStain® laboratuvar prosesinin başlangıç manuel adımlarını otomatikleştiren PrepMate® aksesuarının (PrepMate® yöntemi) eklenmesi. PrepMate®, örneği otomatik olarak karıştırır ve SurePath® Koruyucu Flakonlarından ayırır; örneği bir test tüpünde PrepStain® Dansite Reaktif üzerine katmanlar halinde yerleştirir.
- Manuel yöntemin eklenmesi; bu yöntemde hücre süspansiyonu ve slayt boyama için PrepStain® cihazını kullanmak yerine, hücre süspansiyonu manuel olarak slaytın üzerine katman halinde yerleştirildikten sonra laboratuvar teknisyeni tarafından boyanır.

Bu çalışmada 400'ün üstünde vaka SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik iki alternatif yöntemin şu anda onaylı prosedürle maskeli bir biçimde karşılaştırılmasıyla değerlendirilmiştir. Karşılaştırma her bir yöntemle hazırlanan slaytlara uygulanan morfolojik kriterlere ve kalite kriterlerine dayanmaktadır.

Çalışmanın birincil amaçları şunlardır:

- PrepStain® Sistemi (PrepStain® yöntemi olarak anılır) kullanılan onaylı yöntemle göre hazırlanan slaytlara kıyasla PrepMate® yöntemi kullanılarak hazırlanan SurePath® slaytlarının morfolojik ve kalite yönlerini değerlendirmek.
- Onaylı PrepStain® yöntemine göre hazırlanan slaytlara kıyasla Manuel yöntem kullanılarak hazırlanan SurePath® slaytlarının morfolojik ve kalite yönlerini değerlendirmek.

Çalışmanın ilave amaçları şunlardır:

- Onaylı PrepStain® yöntemiyle PrepMate® yöntemi arasındaki uyuşma miktarının tek başına tesadüfle beklenenden daha fazla olup olmadığını belirlemek.
- Onaylı PrepStain® yöntemiyle Manuel yöntem arasındaki uyuşma miktarının tek başına tesadüfle beklenenden daha fazla olup olmadığını belirlemek.
- PrepMate® yöntemi kullanılarak SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik PrepStain® Sistemi standartlarına göre örnek yeterliliğini değerlendirmek.
- Manuel yöntem kullanılarak SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik PrepStain® Sistemi standartlarına göre örnek yeterliliğini değerlendirmek.

PREPMATE® AKSESUARİ

PrepMate®, PrepStain® laboratuvar prosesinin iki manuel adımını – numune karıştırma ve katmanlama – otomatikleştiren PrepStain® Sistemine yardımcıdır. PrepMate®, örneği otomatik olarak karıştırır ve SurePath® Koruyucu Flakonlarından ayırır; örneği bir test tüpünde PrepStain® Dansite Reaktif üzerine katmanlar halinde yerleştirir. Örnek flakonları, şırınga pipetleri ve test tüpleri (Dansite sıvısı içeren) ile önceden yüklenmiş örnek rafı cihazın tepsisine yerleştirilir. Raf, üç sıra halinde her biri dört tane içerecek şekilde ayarlanan 12 flakon, tüp ve şırınga pipeti içerir. Flakonlar, şırınga pipetleri ve tüpler atılabilir niteliktedir. Örnek kontaminasyonu olasılığını elimine etmek amacıyla bunlar yalnızca bir kez kullanılmalıdır.

MANUEL YÖNTEM

Manuel yöntemde hücre süspansiyonunu slaytlar üzerine katmanlar halinde yerleştirmek ve preparatı boyamak için manuel bir prosedür kullanılır. Jinekolojik örnek toplama ve işleme PrepStain® cihazının kullanılması yönüyle hem Manuel yöntem hem de onaylı PrepStain® yöntemi için aynıdır.

PrepStain® yönteminde, santrifüje tabi tutulmuş hücre paletleri boyanmış SurePath® slaytları üretmek için otomatik olarak işlenmek üzere doğrudan PrepStain® cihazına yerleştirilir.

Manuel yöntemde, deiyonize su santrifüje tabi tutulmuş hücre paletine eklenir, bunu numunenin tekrar bekletilmek ve randomize edilmek üzere vortekse tabi tutulması izler. Numune, SurePath® PreCoat slaytına monte edilmiş durulama odasına aktarılır. Numune slaytın üstüne çöktükten sonra, numune seri Papanicolaou boyama prosedürüyle boyanır.

SLAYT DENETİMİ

Tablo 17'de klinik çalışma slaytlarına yönelik slayt denetimi gösterilmektedir. Çalışma kümesinin **vaka başına üç slayttan** oluştuğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Tablo 17 Slayt Denetimi

	Vakalar	Slaytlar
Çalışmaya kaydedilenlerin toplam sayısı	471	1.413
Analizden çıkarılanların toplam sayısı	-68	-204
Eksik Dokümantasyon	-39	-117
Doğru Hazırlanmamış Slaytlar	-24	-72
Diğer çalışma dışı bırakma nedenleri*	-5	-15
Analize dahil edilenlerin toplam sayısı	403	1.209

* Kayıp numuneler, çift hasta numaraları, vb.

POPÜLASYON DEMOGRAFİLERİ

Tablo 18'de çalışma popülasyonuna dahil edilen tüm vakalar için hasta yaşı demografileri listelenmektedir.

Tablo 18 Hasta Demografileri

Yaş	Vaka Sayısı
19 veya daha küçük	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Toplam	403

Tablo 19'da mevcut klinik bilgiler, Tablo 20'de ise çalışma popülasyonundaki tüm vakalara yönelik klinik hikaye listelenmektedir. Birden fazla ögeğin seçilmesine izin verildiği unutmayın; bu nedenle toplam vaka sayısı çalışma popülasyonundaki toplam vaka sayısı ile örtüşmeyebilir.

Tablo 19 Mevcut Klinik Bilgiler

Klinik Bilgiler	Vaka Sayısı
Sıklık	241
Düzensiz Döngü	69
Histerektomi	16
Gebelik	9
Post Abortus	0
Postnatal	9
Postmenopozal	58
Perimenopozal	1
Bastırılmış İmmün	0
Anormal GYN Sunumu	0
Vajinal Akıntı	137
Östrojen Replasman Tedavisi	19
IUD (Rahim içi cihaz)	2
Oral Kontraseptifler/Implant	20
Doğum Kontrolü yok	181
Bilgi mevcut değil	22

Tablo 20 Klinik Hikaye

Hikaye	Vaka Sayısı
Önceki anormal sitoloji	13
Anormal kanama hikayesi	36
Biyopsi	3
Kanser Hikayesi	1
Kemoterapi	0
Radyasyon	0
Kolposkopi	9
HIV/AIDS	0
HPV (Sigil virüsü)	0
Herpes	1
BTL Hikayesi*	1
PID Hikayesi**	57
Hiçbiri kaydedilmemiş	363

* Bilateral tüp ligasyonu

* Pelvik enflamatuvar hastalık

ÇALIŞMA SONUÇLARI

Bu çalışmanın amacı, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntem prosedürleri kullanılarak hazırlanan SurePath® slaytlarının onaylı PrepStain® yöntemi kullanılarak hazırlananlarla olumlu şekilde benzeştiğini kanıtlamaktır. Klinik veriler, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle hazırlanan slaytların morfoloji ve kalite açısından onaylı PrepStain® yöntemiyle hazırlananlarla karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu göstermektedir.

Klinik veriler ayrıca onaylı PrepStain® yöntemiyle karşılaştırıldığında diyagnostik performansın PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle aynı olduğunu göstermektedir. Bunun yanı sıra, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle hazırlanan slaytların yeterliliği, onaylı PrepStain® yöntemiyle hazırlanan slaytlardan farklı değildir. Bu bulgular, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle onaylı PrepStain® yöntemiyle karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu desteklemektedir.

ÖRNEK MORFOLOJİSİ VE KALİTESİ

Tablo 21’de birincil amaçların sonuçları gösterilmektedir. Yöntemlerin her biriyle hazırlanan slaytların kabul edilebilirlik tablodaki gösterilen morfoloji ve kalite kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Her bir kriter için, kabul edilebilir slaytların oranı karşılık gelen tam %95 güven aralığıyla hesaplanmıştır.

Tablo 21 Kabul Edilebilirlik Kriterleri için Oranların ve Güven Aralıklarının (CI) Karşılaştırması

		Slayt Hazırlama Yöntemi					
		PrepStain®		PrepMate®		Manuel Yöntem	
		Oran (n/N)	Tam %95 CI	Oran (n/N)	Tam %95 CI	Oran (n/N)	Tam %95 CI
Kabul Edilebilirlik Kriterleri	Boyama	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Berraklık	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nükleer	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Sitoloji	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Kümeleme	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Selülarite	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemin kabul edilebilirlik oranları her zaman için yaklaşık olarak PrepStain® yöntemininkilere eşit veya bu oranların üstündedir. Bunun yanı sıra, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle ilişkin %95 tam güven aralıkları her bir kriter için onaylı PrepStain® yöntemininkilere önemli ölçüde örtüşmektedir. Bu da, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemle hazırlanan slaytların morfoloji ve kalite açısından onaylı PrepStain® yöntemiyle hazırlananlarla karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, preparat kalitesi onaylı yöntem ve iki test yöntemi için aynıdır.

DİYAGNOSTİK UYUŞMA

Bu analiz yöntemlerin her biriyle hazırlanan slaytlar üzerinde tanıları karşılaştırmaktadır. Bu veriler split numunelerden türetildiği için, Tablo 22 ve Tablo 23’te sunulan tanı matrisleri, onaylı PrepStain® yöntemiyle karşılaştırılan her bir test slaytı hazırlama yöntemiyle (PrepMate® ve Manuel yöntem) ikili numunelere dayanmaktadır. İdeal olarak, iki yöntemle hazırlanan slaytlardan elde edilen tanıların aynı olacaktır. Bu, aynı tanıları sahip slaytların sayısı ile temsil edilir ve her tablonun ana köşegeninde görülür.

Birinci uyuşma ölçütü ana köşegen üzerindeki slaytların ve karşılık gelen tam %95 güven aralıklarının oranıdır. İkinci uyuşma ölçütü her karşılaştırma için hesaplanmış ve test edilmiş kappa istatistiklerinden elde edilir. Test, iki yöntem arasındaki uyuşma miktarının tek başına tesadüfle beklenenden daha fazla olup olmadığını belirler. Gözlemler sıralandığı için, ana köşegenin üzerinde veya ana köşegene yakın gözlemlerin olması çok daha önem taşımaktadır. Ağırlıklı kappa istatistiği tablolarda ana köşegenin üzerinde veya köşegene yakın gözlemlere ağırlık vermektedir.

ONAYLI PREPSTAIN® YÖNTEMİ İLE PREPSTAIN® YÖNTEMİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 22’de ana köşegen üzerindeki slaytların sayısı 367 (2+334+8+6+5+11+1) ve ana köşegen üzerindeki slaytların oranı 0,8785 ile 0,9366 tam %95 güven limitleriyle 0,9107’dir (367/403).

Tatmin edici olmayan slaytlar, ilk sıra ve ilk kolon silinerek tablodan çıkarıldığında geriye 397 slayt kalır. Ana köşegen üzerindeki slaytların oranı 0,8881 ile 0,9442 %95 güven limitleriyle birlikte 0,9194’tür (365/397).

Tablo 22’de gösterilen sonuçlar, onaylı PrepStain® yöntemi ile PrepMate® yönteminin tablodaki ana köşegen üzerindeki slaytların oranıyla da gösterildiği gibi, diyagnostik uyuşmayla birlikte yüksek oranda slaytlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, ağırlıklı kappa analizi uyuşmanın tek başına tesadüfle ilişkilendirilebilmek için oldukça fazla olduğunu göstermektedir.

Tablo 22 PrepStain® ve PrepMate® Yöntemleri ile Tanıların Çapraz Tablosu

		PrepStain® Yöntemi Tanısı								
PrepMate® Yöntemi Tanısı	Unsat	WNL	BCC-RR	Atipi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Toplam
	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	15
	Atipi	1	3	2	6	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Toplam	5	348	12	17	9	11	0	1	403

ONAYLI PREPSTAIN® YÖNTEMİ İLE MANUEL YÖNTEMİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tablo 23’te ana köşegen üzerindeki slaytların sayısı 353’tür (3+315+6+10+7+11+1). Ana köşegen üzerindeki slaytların oranı 0,8759’dur (353/403). Bu oran için tam binomial %95 güven limitleri 0,8397 ile 0,9065’tir.

Tatmin edici olmayan slaytlar, ilk sıra ve ilk kolon silinerek tablodan çıkarıldığında geriye 398 slayt kalır. Ana köşegen üzerindeki slaytların oranı 0,8881 ile 0,9097 %95 güven limitleriyle birlikte 0,8794’tür (350/398). Tablo 23’te gösterilen sonuçlar, onaylı PrepStain® yöntemi ile Manuel yöntemin tablodaki ana köşegen üzerindeki slaytların oranıyla da gösterildiği gibi, diyagnostik uyuşmayla birlikte yüksek oranda slaytlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, ağırlıklı kappa analizi uyuşmanın tek başına tesadüfle ilişkilendirilebilmek için oldukça fazla olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, diyagnostik performans onaylı yöntem ve iki test yöntemi için aynıdır.

Table 23 PrepStain® Yöntemi ile Manuel Yöntem Tanılarının Çapraz Tablosu

		PrepStain® Yöntemi Tanısı								
Manuel Yöntem Tanısı	Unsat	WNL	BCC-RR	Atipi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Toplam
	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	25
	Atipi	0	12	4	10	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Toplam	5	348	12	17	9	11	0	1	403

SLAYT YETERLİLİĞİ

Slayt yeterliliği hazırlama yöntemlerinin her biri için değerlendirilmiştir. Veriler iki taraflı MacNemar testi kullanılarak analiz edilmiştir.¹⁸

Tablo 24'te onaylı PrepStain® yöntemiyle PrepMate® yönteminin karşılaştırılmasından çıkan yeterlilik sonuçları gösterilmektedir.

Table 24 PrepMate® ve PrepStain® Yöntemi Slaytları için Yeterlilik sonuçları

		PrepStain® Yöntem Sonucu		
		SAT veya SBLB	UNSAT	
PrepMate® Yöntemi Sonucu	SAT veya SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

Tablo 25'te onaylı PrepStain® yöntemiyle Manuel yöntemin karşılaştırılmasından çıkan yeterlilik sonuçları gösterilmektedir.

Table 25 Manuel ve PrepStain® Yöntemi Slaytları için Yeterlilik sonuçları

		PrepStain® Yöntem Sonucu		
		SAT veya SBLB	UNSAT	
Manuel Yöntem Sonucu	SAT veya SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

Bu iki karşılaştırma, PrepMate® yöntemiyle Manuel yöntemin slayt yeterliliği açısından onaylı PrepStain® yönteminden farklı olmadığını göstermiştir.

DIRECT-TO-VIAL ÇALIŞMASI

PrepStain® Sisteminin ilk FDA onayının ardından, TriPath Imaging amaçlandığı gibi direct-to-vial örneklerle kullanıldığında büyük, çok merkezli bir PrepStain® Sistemi çalışması gerçekleştirmiştir. Önceki klinik çalışmalarda split-numune yöntemi kullanılmıştır; bu yöntemde numune ilk olarak geleneksel Pap smiri oluşturmada kullanılmıştır ve kalan numune SurePath® toplama sıvısına yerleştirilmiş ve SurePath® slaytı oluşturmak amacıyla PrepStain® Sistemiyle işleme tabi tutulmuştur. Split-numune tasarımlarının kalıntı hücre materyalinden hazırlanan testin tam performansını azalttığı kanıtlanmıştır.¹²

Bu çalışmada direct-to-vial numunelerden üretilen SurePath® slaytlarının performansı geleneksel Pap smirleriyle karşılaştırılmıştır. SurePath® ile elde edilen sonuçlar geleneksel Pap smirlerinin tarihsel kohortundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Özel olarak, bu çalışmada SurePath® slaytlarının yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyonların (HSIL), adenokarsinom in-situ ve kanserin (HSIL+) saptanmasını artırıp artırmadığı değerlendirilmiştir. Tüm mevcut biyopsi verileri her iki slayt popülasyonu için toplanmıştır.

SurePath® popülasyonu prospektif olarak 57 klinikten toplanmış 58.580 slayttan oluşmaktadır; klinikler geleneksel Pap smiri toplamadan neredeyse %100 olarak SurePath® örneği toplamaya geçmiştir. Bu kliniklerde toplanan örnekler işlenmek üzere üç klinik tesise gönderilmiştir.

Geleneksel popülasyon SurePath® slaytlarında olduğu gibi aynı kliniklerden toplanan 58.988 slayttan oluşmaktadır. Bu tarihsel popülasyon klinikler SurePath® slaytlarına geçmeden önce en yeni slaytlardan başlanarak toplanmıştır, ardından her klinik testteki geleneksel ve SurePath® slayt popülasyonları sayıca eşitlenene kadar geriye döndürülmüştür.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar geleneksel slaytların 248/58.988 olan saptama oranına kıyasla SurePath® slaytlarının saptama oranının 405/58.580 olduğunu göstermektedir; böylece saptanabilirlik oranları da sırasıyla %0,691 ve %0,420'dir (Bkz. Tablo 26). Bu klinik tesisler ve çalışma popülasyonları için bu, SurePath® slaytlarına yönelik HSIL+ lezyonlarının saptanmasında %64,4'lük (p<0,00001) bir artış olduğunu göstermektedir.

Tablo 26 Merkezlere göre Saptanabilirlik Oranlarının Karşılaştırılması

HSIL+

Merkez	Geleneksel			SurePath®		
	Toplam	HSIL+	Yüzde (%)	Toplam	HSIL+	Yüzde (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Toplam	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Merkez	Geleneksel			SurePath®		
	Toplam	LSIL+	Yüzde (%)	Toplam	LSIL+	Yüzde (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Toplam	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Merkez	Geleneksel			SurePath®		
	Toplam	ASCUS+	Yüzde (%)	Toplam	ASCUS+	Yüzde (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Toplam	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Tatmin Edici Olmayan

Merkez	Geleneksel			SurePath®		
	Toplam	UNSAT+	Yüzde (%)	Toplam	UNSAT+	Yüzde (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Toplam	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Not: Merkezden merkeze performansın farklılık göstermesi beklenir. Her laboratuvar kendi çalışmasının kalitesini dikkatlice izlemekle yükümlüdür.

PROSEDÜR

SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik tam prosedürler PrepStain® Sistemi Kullanıcı Kılavuzunda verilmektedir.

KAYNAKÇA

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyt PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyt preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

ŞİRKETİN ADI VE YERİ

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 ABD (800) 426-2176
TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
PrepStain® hakkında bilgi için: 1-800-426-2176 veya 336-222-9707
Faks: 336-222-8819.
ABD Patent Numaraları: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Kanada Patent Numaraları: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Japonya Patent Numaraları: 2837076, 2781513.
Avrupa Patent Numaraları: 0590504, 0590447, 0590506B.
Diğer ABD ve yabancı patentler beklenmektedir.

MDCI Ltd
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL İngiltere

EC REP
Yetkili Temsilci

©2008 TriPath Imaging, Inc. Tüm Hakları Saklıdır.

AVSEDD ANVÄNDNING

PrepStain®-systemet (före detta AutoCyte® PREP-systemet) är en vätskebaserad cellprepareringsprocess med tunt skikt. PrepStain®-systemet skapar SurePath® objektglas som är avsedda att ersätta konventionella gynekologiska Pap-test. SurePath® objektglas (före detta AutoCyte® PREP-objektglas) är avsedda för användning vid kontroll för att upptäcka livmoderhalscancer, lesioner som utgör förstadier till cancer, atypiska celler och alla övriga cytologiska kategorier enligt definition i The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses (Bethesda-systemet för rapportering av cervikala/vaginala cytologiska diagnoser).^{1, 19}

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV PROCEDUREN

PrepStain®-systemet omvandlar en vätskesuspension från ett cervikalt cellprov till ett diskret färgat, homogent, tunt cellskikt, samtidigt som diagnostiska cellkluster bibehålls.²⁻⁹ Processen består av cellbevarande, randomisering, berikning av diagnosmaterial, pipettering, sedimentering, färgning och täckglas för att skapa ett SurePath® objektglas för användning vid rutinmässig cytologisk kontroll och kategorisering enligt definition i Bethesda-systemet.¹ SurePath® objektglas ger en välbevarad population färgade celler i en cirkel med 13 mm diameter. Lufttorkade artefakter, skymmande, överlappande cellmaterial och kontamination elimineras i hög utsträckning. Antalet vita blodkroppar reduceras signifikant vilket ger enklare visualisering av epitelceller, diagnostiskt relevanta celler och infektiösa organismer.

SurePath®-processen börjar med att kvalificerad medicinsk personal använder en borstliknande provtagningsanordning (t.ex. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Nederländerna) eller en endocervikal borste/plastspatelkombination (t.ex. Cytobrush® Plus GT och Pap Perfect® spatel, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) med löstagbara huvuden för gynekologisk provtagning. Istället för att stryka ut cellerna som samlats in med provtagningsanordningen på ett objektglas, tas huvudena på provtagningsanordningarna loss från handtagen och placeras i en liten flaska med SurePath® konserveringslösning. Flaskorna förses med lock, märks och skickas med lämpliga dokument till laboratoriet för bearbetning. Huvudena på provtagningsanordningarna avlägsnas aldrig från konserveringsflaskan med det tagna provet.

I laboratoriet blandas det konserverade provet genom vortexblandning och överförs sedan till PrepStain® densitetsreagens. Ett berikningssteg, som består av centrifugsedimentering genom densitetsreagenset, avlägsnar delvis icke-diagnostisk kontamination och överskott av inflammatoriska celler från provet. Efter centrifugeringen återsuspenderas cellerna, som nu är i kulkform, blandas och överförs till en stagnationskammare monterad på ett SurePath® PreCoat objektglas. Cellerna sedimenteras genom gravitation och färgas sedan genom en modifierad Papanicolaou färgningsprocedure. Objektglaset rensas med xylen eller ett xylensubstitut och förses med täckglas. Cellerna, som presenteras inom en cirkel med 13 mm diameter, undersöks under mikroskop av utbildade cytotekniker och patologer med tillgång till annan relevant bakgrundsinformation om patienten.

BEGRÄNSNINGAR

- Gynekologiska prover för preparering med PrepStain®-systemet samlas in med en borstliknande provtagningsanordning eller en endocervikal borste/plastspatelkombination med löstagbara huvuden enligt den standardprovtagningsmetod som tillverkaren tillhandahåller. Träspatlar får inte användas med PrepStain®-systemet. Endocervikala borst/plastspatelkombinationer som inte är löstagbara får inte användas med PrepStain®-systemet.
- Utbildning av auktoriserade personer är ett krav för produktion och utvärdering av SurePath® objektglas. Cytotekniker och patologer utbildas på morfologibedomning på SurePath® objektglas. Denna utbildning innehåller även ett färdighetsprov. Laboratoriekunder får möjlighet att använda övningsobjektglas och testset. TriPath Imaging®, Inc. erbjuder också assistans med preparering av övningsobjektglas från varje kunds egna patientpopulationer.
- För att PrepStain®-systemet ska fungera krävs att endast de engångsmaterial som stöds eller rekommenderas av TriPath Imaging för användning tillsammans med PrepStain®-systemet används. Använda engångsmaterial kasseras i enlighet med gällande bestämmelser.
- Allt material är avsett endast för engångsbruk och får inte återanvändas.

Reagenser



För in vitro-diagnostiskt bruk. Endast för användning i laboratorium.

Varningar



SurePath® konserveringsvätska innehåller en vattenbaserad lösning med denaturerad etanol. Blandningen innehåller små mängder metanol och isopropanol. Får ej förtäras.



PrepStain® densitetsreagens innehåller natriumazid. Får ej förtäras. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda högexplosiva metallazider. Vid kassering skall man spola med stora mängder vatten för att förhindra aziduppbbyggnad. Se publikationen DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, som utfärdats av Centers for Disease Control (amerikansk smittskyddsmyndighet) för ytterligare information. Se webbsidan: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG-kombinationscytologiska färgmedel innehåller alkohol. Giftigt vid förtäring. Inandas ej ångorna. Används med adekvat ventilation. Undvik kontakt med hud och ögon. Mycket brännbart.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- God laboratoriepraxis bör iaktas, och alla procedurer för användning av PrepStain®-systemet följs noggrant.
- Reagenser ska förvaras i rumstemperatur (15° till 30° C) och användas före utgångsdatumet för att systemet skall fungera. Förvaring av SurePath® konserveringsvätska utan cytologiska prover kan ske i upp till 36 månader från tillverkningsdatumet, i rumstemperatur (15° till 30° C). Förvaring av SurePath® konserveringsvätska med cytologiska prover kan ske i upp till 6 månader i kylskåp (2° till 10° C) eller 4 veckor i rumstemperatur (15° till 30° C).
- Undvik stänk och aerosolbildning. Använd skyddshandskar, ögonskydd och skyddssrock.
- SurePath® konserveringsvätska har testats för antimikrobiell effektivitet mot *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* samt *Aspergillus niger* och har visat sig vara effektiv. SurePath®-konserverade prover som ympats med 10⁶ CFU/ml av respektive art uppvissade noll tillväxt efter 14 dagars (28 dagar för *Mycobacterium tuberculosis*) inkubation under standardförhållanden. Allmänna försiktighetsåtgärder för säker hantering av biologiska vätskor skall emellertid alltid vidtas.
- Om rekommenderade procedurer i bruksanvisningen till PrepStain®-systemet inte följs kan det negativt påverka systemets funktion.

MATERIAL

Se bruksanvisningen för PrepStain®-systemet för fullständig information om reagenser, komponenter och tillbehör. Inte alla material som anges nedan krävs vid manuell preparering av SurePath® objektglas (utan att använda PrepStain®-instrumentet).

Material som medföljer

- PrepStain®-instrument
- Uppsamlingsflaska med SurePath® konserveringsvätska (innehåller SurePath® konserveringsvätska)
- En eller flera cervikala provtagningsanordningar med löstagbara huvuden.
- PrepStain® densitetsreagens
- PrepStain® sprutpipetter
- PrepStain® stagnationskammare
- Cytologisk färgningsats
- SurePath® PreCoat objektglas
- Centrifugeringsrör
- Objektglas och provrörsställ
- Överförings- och aspireringsspetsar för engångsbruk

Material som krävs men inte medföljer

- Vortexmixer
- Avjoniserat vatten (pH 7,5 till 8,5)
- Isopropanol och alkohol av reagensklass
- Rensningsmedel, monteringsmedier och täckglas av glas

Förvaring

Förvaring av SurePath® konserveringsvätska utan cytologiska prover kan ske i upp till 36 månader från tillverkningsdatum i rumstemperatur (15° till 30° C).

Förvaring av SurePath® konserveringsvätska med cytologiska prover kan ske i upp till 6 månader i kylskåp (2° till 10° C) eller 4 veckor i rumstemperatur (15° till 30° C).

DIAGNOSTISK TOLKNING OCH PREPARATETS LÄMPLIGHET

Efter utbildning som auktoriserats av TriPath Imaging på PrepStain®-systemet och SurePath® objektglas är de cytologiska diagnostiska kriterier enligt Bethesda-systemet som för närvarande tillämpas i cytologiska laboratorier för konventionella Pap-test tillämpliga även för SurePath® objektglas.¹ Nya riktlinjer som rekommenderas i rapporteringssystemet i Bethesda 2001 handlar om vätskebaserade preparat och definitioner av hur man skall fastställa adekvat cellspecifitet för dylika preparat.

I frånvaro av onormala celler anses ett preparat vara av otillfredsställande kvalitet om en eller flera av följande förutsättningar föreligger:

- (5) Otillräckligt antal diagnostiska celler (färre än 5 000 skvamösa epitelceller per preparation). Följande procedurer rekommenderas för att uppskatta antalet välbevarade skvamösa epitelceller på ett SurePath® objektglas:

- Läs i tillverkarens manual för varje mikroskopmodell som används vid kontrollen eller kontakta tillverkaren av mikroskopet för att fastställa arean på bildfältet som används med rekommenderat okular och 40x objektiv. Alternativt kan bildfältet beräknas med en hemocytometer eller liknande mikroskopisk glidande skala (fältarean = πr^2 där r är fältets radie).
- Minsta genomsnittliga antal celler per 40x objektivfält fastställs genom att du dividerar den ungefärliga cellavlagringsarean på 130 mm² på SurePath® objektglas med fältarean för mikroskopet ifråga. Resultatet antal delas sedan med minimiantalet 5 000 celler. Det resulterande antalet är det rekommenderade minsta genomsnittliga adekvata antal epitelceller i ett 40x objektivs bildfält. Notera detta antal och spara det för cytoteknikern. Riktlinjerna i Bethesda 2001 anger det ungefärliga antalet celler per fält för ett 13 mm preparat.

- Minst tio fält skall räknas horisontellt eller vertikalt längs diametern på preparatets mitt.
 - Ett praktiskt hjälpmedel för att bedöma cellulariteten är att använda makroskopisk utvärdering av visuell densitet på det färgade preparatet för att kontrollera hur adekvata preparatets produktionskörningar är. Dock måste ändå primär utvärdering i mikroskop av cytoteknikern ske under kontrollprocessen.
- (6) 75 % eller fler av cellkomponenterna skym av inflammation, blod, bakterier, slemhinna eller artefakter som utesluter cytologisk tolkning av objektglaset.

Alla onormala eller tveksamma observationer vid kontrollen skall remitteras till en patolog för utvärdering och diagnos. Patologen skall notera eventuella diagnostiskt signifikanta cellulära morfologiska förändringar.

PRESTANDAEGENSKAPER: RAPPORT OM KLINISKA STUDIER

FÖRSTA STUDIEN MED DELAT PROV

TriPath Imaging genomförde en framtidsinriktad, maskerad, klinisk undersökning med delade prover och matchade par på flera kliniker, för att jämföra det diagnostiska resultatet av SurePath® objektglas, som tagits fram med PrepStain®-systemet och konventionellt preparerade Pap-test. Syftet med studien var att bedöma SurePaths® prestanda jämfört med konventionella Pap-test för detektion av livmoderhalscancer, lesioner som utgör ett förstadium till cancer och onormala celler i olika patientpopulationer och laboratoriemiljöer. Dessutom bedömdes hur adekvata de båda preparaten var.

Enligt rekommendationerna i FDA:s dokument ”Points to Consider” (att tänka på) för cervikala cytologiska anordningar¹⁰, preparerades först de konventionella Pap-testen, och därefter placerades kvarvarande prov på den borstliknande provtagningsanordningen i en SurePath® provtagningsflaska med konserveringsvätska.

Efter transport till laboratoriet bearbetades varje konserverad cellsuspension enligt protokollet i PrepStain®-systemet. Resultaterande SurePath® objektglas och matchande konventionellt objektglas med Pap-test undersöktes manuellt och diagnosticerades oberoende av varandra med diagnostiska kategorier enligt Bethesda-systemet. På varje klinik utvärderade en patolog alla onormala objektglas.

I enlighet med den metod som beskrivits av Shatzkin¹¹ användes vid denna studie en oberoende referenspatolog på en särskild remissklinik, som granskade alla onormala och avvikande fall, reparationsfall och 5 % av de normala fallen från samtliga kliniker på ett maskerat sätt för att få fram en diagnostisk ”sanning” för varje fall.

PRESTANDAEGENSKAPER

Kvinnorna i studien var mellan 16 och 87 år, och 772 hade passerat klimakteriet. Av de 8 807 patienterna som ingick i studien hade 1 059 haft onormala Pap-test tidigare. Hela den studerade patientpopulationen bestod av följande grupper: vita (44 %), svarta (30 %), asiater (12 %), latinamerikaner (10 %), ursprungsamerikaner (3 %) samt övriga (1 %).

Prover med felaktig dokumentation, patienter under 16 år, patienter med hysterektomier samt cytologiskt otillfredsställande och inadekvata prover uteslöts. Man försökte få med så många fall av livmoderhalscancer och försjukdomar till cancer som möjligt genom att ta med patienter med hög risk, sällan undersökta och remitterade patienter.

Av totalt 10 335 fall accepterades 9 046 och utvärderades på åtta olika studiekliniker. Av dessa 9 046 uppfyllde 8 807 kraven i Bethesda-systemet på adekvat preparering och var tillgängliga för komplett diagnos av båda preparaten.

STUDIENS RESULTAT

Målet med den kliniska undersökningen var att jämföra prestandan på SurePath® objektglas som producerats med PrepStain®-systemet med konventionellt preparerade Pap-test. Objektglas av båda preparattyperna klassificerades enligt kriterierna i Bethesda-systemet. Studieprotokollet innebar fördelar för konventionella Pap-test eftersom de konventionella Pap-testen alltid preparerades först, vilket därmed begränsade SurePath® objektglasen till det restmaterial som fanns kvar på den borstliknande anordningen (den del av provet som normalt skulle ha kasserats).¹² Avsedd användning av SurePath®-testet är applikation direkt i flaskan, där samtliga insamlade celler är tillgängliga för PrepStain®-systemet.

För att jämföra känsligheten på SurePath® objektglas och objektglas med konventionella Pap-test vid manuell avläsning fastställdes nivån av abnormitet i fallen av referenspatologen och jämfördes med de diagnoser som ställts på studieklinikerna. Referensdiagnosen baserades på de mest onormala diagnoserna för varje objektglaspreparat av den oberoende referenspatologen. Detta resultat användes som ”sann” diagnos och som referensvärde för jämförelsen mellan klinikernas resultat med PrepStain®-systemets preparering av SurePath®-objektglas och konventionella Pap-testpreparat. Nollhypotesen om att känsligheten på de båda metoderna för preparering av objektglas var likvärdig, testades med McNemar chi-kvadrattestet för parvisa data.¹³ I detta statistiska test jämfördes avvikande resultat från de båda prepareringsmetoderna.

I tabell 1 visas en direkt jämförelse av alla klinikers resultat för SurePath® objektglas jämfört med konventionella objektglas för de diagnostiska behandlingskategorierna Inom normala gränser (within Normal Limits, WNL), Atypiska skvamösa celler av icke fastställd signifikans/atypiska körtelceller av icke fastställd signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance, ASCUS/AGUS), Låggradig skvamös intraepitelial lesion (Low-grade Squamous Intraepitelial Lesion, LSIL), högradig skvamös intraepitelial lesion (High-grade Squamous Intraepitelial Lesion, HSIL) samt cancer (CA).

Tabell 1 Första studien av delade prover: 8 807 matchade prover - jämförelse av klinikerresultat - ingen referenspatolog

Resultat efter klinik								
Klinik nr.	Typ av objektglas	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totalt
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	KN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1 514	47	4	81	24	0	1 670
	KN	1 560	33	6	40	31	0	1 670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	KN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1 302	60	2	19	5	0	1 388
	KN	1 326	37	2	19	4	0	1 388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	KN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1 272	179	6	83	35	1	1 576
	KN	1 258	209	9	68	30	2	1 576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	KN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1 227	61	3	86	44	2	1 423
	KN	1 209	57	0	94	61	2	1 423
Totalt	SP	7 759	509	36	342	135	26	8 807
	KN	7 768	531	39	271	177	21	8 807

SP = SurePath®

KN = Konventionellt

I tabell 2 visas en direkt jämförelse av alla klinikresultat för SurePath®-prepareringsmetoden jämfört med konventionella Pap-testpreparat för samtliga diagnostiska behandlingskategorier.

Tabell 2 Första studien av delade prover: 8 807 matchade prover - jämförelse av alla klinikers resultat - ingen referenspatolog

Konventionellt preparerade Pap-test								
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totalt
	WNLWNL	7 290	361	20	63	24	1	7 759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CACA	2	1	2	0	6	15	26
	TotalTotalt	7 768	531	39	271	177	21	8 807

Inget resultat från en oberoende referenspatolog återspeglas i tabell 1 eller 2.

Tabell 3 Första studien av delade prover: jämförelse av alla klinikers rsultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om ASCUS/AGUS - avvikande felanalys

Konventionellt preparerat objektglas				
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång		Fel	
	Framgång			
	Fel	113	205	318
		180	229	409
		293	434	727

Framgång = ASCUS/AGUS

Fel = WNL & reaktivt/reparerbart

Resultat av McNemar-test: X²mc = 1,62, p = 0,2026

Fel med konventionell metod: 205

Fel med SurePath®: 180

I tabell 3 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierats som ASCUS eller AGUS. Denna utvärdering gör det möjligt att analysera avvikande fel för att bedöma känsligheten hos de båda metoderna i studieupplägget med delade prover. Fel inkluderar WNL och reaktiva/reparerbara prov. Eftersom det p-värde som fastställdes genom McNemar-testet översteg 0,05, var resultaten med SurePath® och konventionella Pap-test likvärdiga.

Tabell 4 Första studien av delade prover: jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om LSIL - avvikande felanalys

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	140	63	203
	Fel	54	86	140
		194	149	343

Framgång = LSIL

Fel = WNL & reaktivt/reparerbart & ASCUS/AGUS

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Fel med konventionell metod: 63

Fel med SurePath®: 54

I tabell 4 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierats som LSIL. Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov samt ASCUS/AGUS. I likhet med ASCUS/AGUS var känsligheten på de båda metoderna i studien med delade prover statistiskt likvärdiga, med ett p-värde som översteg 0,05.

Tabell 5 Första studien av delade prover: jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om HSIL+ avvikande felanalys (LSIL är inte ett fel)

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	160	28	188
	Fel	36	38	74
		196	66	262

Framgång = HSIL+

Fel = WNL, reaktivt/reparerbart samt ASCUS/AGUS

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Fel med konventionell metod: 28

Fel med SurePath®: 36

I tabell 5 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierats som HSIL+. I denna jämförelse ansågs inte LSIL vara ett fel, utan snarare en avvikelse.^{10,14,15} Felen inbegriper WNL, reaktiva/reparerbara prov samt ASCUS/AGUS. Känslighetsanalysen av avvikande fel visade att de båda metoderna i studieupplägget med delade prover var statistiskt likvärdiga.

Tabell 6 Första studien av delade prover: Avvikande felanalys av cancerfall (HSIL är inte ett fel, LSIL betraktas som ett fel)

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	19	2	21
	Fel	5	1	6
		24	3	27

Framgång = Cancer

Fel = WNL & reaktivt/reparerbart, ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Fel med konventionell metod: 2

Fel med SurePath®: 5

I tabell 6 visas resultat (från samtliga kliniker) för fall som enligt referensmetoden bedömts vara cancer. Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS och LSIL. Känslighetsanalysen för avvikande fel påvisade den statistiska ekvivalensen hos metoderna. Dessa 27 cancerfall ingick i studien med förnyad utvärdering. Dessa data presenteras i tabell 9.

Tabell 7 Första studien av delade prover: jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om HSIL+ avvikande felanalys (LSIL betraktades som ett fel i denna analys)

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	94	33	127
	Fel	67	68	135
		161	101	262

Framgång = (HSIL+)

Fel = WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Fel med konventionell metod: 33

Fel med SurePath®: 67

I tabell 7 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierats som HSIL+. Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS och LSIL. Även om detta inte ingick i det ursprungliga studieprotokollet¹⁰ gjordes en statistisk jämförelse av metoderna när

LSIL betraktades som ett diagnostiskt fel i ett fall som faststälts som HSIL+ av den enda oberoende referenspatologen. I denna statistiska jämförelse av den diagnostiska känsligheten, där LSIL betraktas som ett fel och inte som en smärre avvikelse, skulle SurePath® objektglas som preparerats av PrepStain®-systemet inte vara likvärdiga med konventionellt preparerade Pap-test för detektion av HSIL+-abnormalitet i studien med delade prover.

MASKERAD FÖRNYAD BEDÖMNING AV HSIL+-FALLEN

En ny bedömning gjordes för att avgöra om resultaten påverkades av preparatets kvalitet eller subjektivitet vid tolkningen. För att bedöma de 262 fall som diagnosticerades som HSIL+ i den ursprungliga studien (tabell 7), utfördes ytterligare en utvärdering efter implementering av ett nytt utbildningsprogram för yrkesverksamma inom cytologin, som var avsett att betona konsekvent tolkning mellan de diagnostiska grupperna i Bethesda-systemet. Dessa HSIL+-fall ommaskerades som en del av en förnyad utvärdering bestående av totalt 2 438 prover som preparerades med samma protokoll för delade prover. Studieklinikernas resultat för de båda preparaten jämfördes sedan med ett nytt referensvärde som krävde överensstämmelse mellan minst två av tre oberoende referenspatologer avseende den mest onormala cytologiska diagnosen.

I referensprocessen för den förnyade utvärderingen undersöktes båda objektglaspreparaten från de avvikande fallen (PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas och konventionellt preparerade objektglas) på nytt av ytterligare en cytotekniker, och nyidentifierade abnormiteter lades till dem från den ursprungliga undersökningen. Tre referenscytopatologer utvärderade sedan alla avvikande fall med ett maskerat protokoll. Denna mer strikta referensmetod minskade antalet HSIL+-referensfall från 262 i den ursprungliga studien till 209 i den förnyade utvärderingen. Skillnaden på 53 fall kan förklaras på följande sätt:

48 fall diagnosticerades med den mer strikta referensmetoden som LSIL eller mindre allvarliga, 3 fall bedömdes som otillfredsställande adekvata efter förnyad utvärdering och resterande 2 fall var inte tillgängliga för bedömning i den maskerade förnyade utvärderingen.

Tabell 8 Förnyad utvärdering: avvikande felanalys för 209 ursprungliga HSIL+-fall, som bedömdes på nytt med de mer strikta referenskriterier som krävde tre oberoende referenspatologer

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	153	26	179
	Fel	24	6	30
		177	32	209

Framgång = HSIL+

Fel = WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Fel med konventionell metod: 26

Fel med SurePath®: 24

I tabell 8 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierats som HSIL+. Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov ASCUS/AGUS och LSIL. I denna jämförelse betraktades LSIL som ett diagnostiskt fel jämfört med ett fall som faststälts som HSIL+ av den oberoende referenspatologen. Jämförelse av diagnostisk sensitivitet visade statistisk ekvivalens mellan de båda metoderna.

Tabell 9 Förnyad utvärdering: avvikande felanalys av cancerfall (HSIL är inte ett fel, LSIL betraktas som ett fel)

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Framgång	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Framgång	32	3	35
	Fel	3	0	3
		35	3	38

Framgång = Cancer

Fel = WNL & reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fel med konventionell metod: 3

Fel med SurePath®: 3

I tabell 9 visas resultat för fall som enligt den nya referensmetoden bedömts vara cancer (samtliga kliniker). Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS och LSIL. Ett fel berodde på en LSIL-tolkning. Övriga fel berodde på tolkning av objektglasen som ASCUS/AGUS eller WNL. Känslighetsanalysen av avvikande fel visade att de båda metoderna var statistiskt likvärdiga.

Den maskerade förnyade utvärderingen innehöll 2 097 nya fall som användes för ommaskering av de ursprungliga HSIL+-proverna. Analysen och jämförelsen av prepareringarna av dessa nya fall visas i tabell 10.

Tabell 10 Förnyad utvärdering: 2 097 direkt jämförelse av klinikresultat - ingen referenspatolog

		Konventionellt preparerade Pap-test						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totalt
PrepStain®- preparerade SurePath® objektglas	WNL	1 561	128	0	47	30	0	1 766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Totalt	1 710	203	3	104	70	7	2 097

Av de 2 097 nya fall som beskrivs ovan diagnosticerades 77 som HSIL+ av referenspatologerna. I tabell 11 presenteras känslighetsanalysen för dessa 77 HSIL+-fall.

Tabell 11 Förnyad utvärdering: jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om HSIL+ avvikande felanalys (LSIL betraktades som ett fel i denna analys)

PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Konventionellt preparerat objektglas			
		Framgång	Fel	
	Framgång	25	21	46
	Fel	21	10	31
		46	31	77

Framgång = HSIL+

Fel = WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS & LSIL

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Fel med konventionell metod: 21

Fel med SurePath®: 21

Analys av avvikande fel i tabell 11 visade ett lika antal HSIL+-missar för båda prepareringsmetoderna. Fel inkluderar WNL, reaktiva/reparerbara prov, ASCUS/AGUS och LSIL. Det statistiska testet visade att de båda metoderna var likvärdiga vid uppläggning med delade prover, även när LSIL betraktades som ett fel mot ett referensvärde på HSIL+. I tabell 12 sammanfattas de beskrivande diagnoserna av benigna fynd från samtliga kliniker.

Tabell 12 Första studien av delade prover: Sammanfattning av godartade cellförändringar

Beskrivande diagnos (antal patienter: 8 807)	PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas		Konventionellt preparerat objektglas	
	N	%	N	%
Godartade cellförändringar				
*Infektion:				
<i>Candida</i> -arter	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> -arter	6	0,1	2	< 0,1
Bakterier (övriga)	52	0,6	191	2,2
**Reaktiva reparerbara förändringar	424	4,8	319	3,6

* För kategorin Infektion ovan har observationer av smittsamma medel rapporterats. Mer än en klass av organismer kan förekomma i varje fall.

** Reaktiva reparerbara förändringar inbegreper reaktiva förändringar som var förknippade med inflammation, atropisk vaginit, strålning och användning av IUD samt typiska reparationer såsom fjäll, skvamösa metaplastiska eller kolumnära epitelceller.

Totalt 8 807 fall innehåller ingen "otillfredsställande" bedömning av någon av provningskliniker eller referenskliniken. Ytterligare 239 bedömdes som "otillfredsställande" av någon eller båda provningskliniker eller referenskliniken för ena eller båda preparaten. Av de 239 otillfredsställande fallen noterades 151 endast på konventionella objektglas, 70 endast på SurePath® och 18 observerades på både konventionella och SurePath® objektglas. Alla otillfredsställande fall uteslöt från diagnostisk jämförelse med kategorierna i Bethesda-systemet, men fördes tillbaka för jämförelse av hur adekvat preparatet var.

I tabell 13 till 16 visas resultaten för hur adekvata preparaten var från samtliga kliniker.

Tabell 13 Första studien av delade prover: resultat för hur adekvata prepareringarna var

Prepareringens lämplighet (antal patienter: 9 046)	PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas		Konventionellt preparerat objektglas	
	N	%	N	%
Tillfredsställande	7 607	84,1	6 468	71,5
Tillfredsställande, men begränsat av:	1 385	15,3	2 489	27,5
Endocervikal komponent saknades	1 283	14,2	1 118	12,4
Lufttorkningsartefakt	0	0	17	0,2
Tjockt utstryk	1	< 0,1	0	0
Skymmande blod	53	0,6	121	1,3
Skymmande inflammation	102	1,1	310	3,4
Knappt med skvamösa epitelceller	4	< 0,1	7	0,1
Cytolys	10	0,1	11	0,1
Ingen klinisk historik	0	0	0	0
Ej specificerat	60	0,7	1 018	11,3
Otillfredsställande för utvärdering:	54	0,6	89	1,0
Endocervikal komponent saknades	42	0,5	42	0,5
Lufttorkningsartefakt	0	0	0	0
Tjockt utstryk	0	0	2	< 0,1
Skymmande blod	7	0,1	6	0,1
Skymmande inflammation	6	0,1	6	0,1
Knappt med skvamösa epitelceller	6	0,1	0	0
Cytolys	0	0	1	< 0,1
Ingen klinisk historik	0	0	0	0
Ej specificerat	37	0,4	32	0,5

Anm: Vissa patienter tillhörde mer än en underkategori.

Fler otillfredsställande fall fastställdes av referenspatologen, och det totala antalet otillfredsställande resultat återges i tabell 15. I denna tabell betyder SAT = Satisfactory (tillfredsställande), SBLB = Satisfactory But limited By (tillfredsställande men begränsat av (något angivet tillstånd)) och UNSAT = Unsatisfactory (otillfredsställande).

Tabell 14 Första studien av delade prover: sammanfattning av resultaten avseende hur adekvata prepareringarna var från samtliga kliniker i den kliniska provningen

		Konventionellt preparerat objektglas			
		SAT	SBLB	UNSAT	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	SAT	5 868	1 693	46	7 607
	SBLB	579	772	34	1 385
	UNSAT	21	24	9	54
		6 468	2 489	89	9 046

UNSAT: resultat av McNemar-test $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$

SBLB: resultat av McNemar-test $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

I tabell 14 visas resultat från en jämförelse av hur adekvata prepareringarna var för båda prepareringsmetoderna. Det var signifikant färre otillfredsställande och SBLB-fall med SurePath® objektglas jämfört med konventionella objektglas.

Tabell 15 Första studien av delade prover: jämförelse av otillfredsställande resultat från de kliniska provningskliniker och referenskliniken

		Konventionellt preparerat objektglas		
		SAT	UNSAT	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	SAT	8 807	151	8 958
	UNSAT	70	18	88
		8 877	169	9 046

Resultat av McNemar-test $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

I tabell 15 visas en jämförelse av tillfredsställande och otillfredsställande prepareringar från utvärderingarna på både provningskliniker och referenskliniken. SurePath® objektglas visar en statistiskt signifikant reduktion av antalet otillfredsställande fall jämfört med konventionella objektglas.

Tabell 16 Resultat avseende hur adekvata prepareringarna var efter klinik - SBLB-frekvenser vid Ingen endocervikal komponent (ECC)

Klinik	Fall	SurePath® SBLB ingen ECC N (%)	Konventionell SBLB ingen ECC N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1 712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1 395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1 695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1 448	207 (14,3)	210 (14,5)
Alla kliniker	9 046	1 283 (14,2)	1 118 (12,4)

Detektionen av endocervikala celler (tabell 16) varierade på olika provningskliniker. I allmänhet förelåg 1,8 % skillnad i endocervikal detektion mellan konventionella Pap-test och SurePath®-metoden, vilket liknar tidigare studier med metoden delade prover.^{16,17}

SurePath® objektglas, som producerats av PrepStain®-systemet, gav resultat liknande konventionella Pap-test vid jämförelse av delade prover i ett antal olika patientpopulationer och laboratoriemiljöer. Dessutom var det signifikant färre otillfredsställande fall och SBLB-fall med SurePath® objektglas jämfört med konventionella objektglas. SurePath® objektglas kan därför användas som ersättning för konventionella cellutstryk för detektion av atypiska celler, lesioner som utgör förstadium till cancer, livmoderhalscancer och alla andra cytologiska kategorier som definieras i Bethesda-systemet.

UTVÄRDERING AV SUREPATH® OBJEKTGLASPREPARATION MED ANVÄNDNING AV PREPMATE® OCH MANUELLA METODER

TriPath Imaging genomförde en framtidsinriktad, undersökning på flera kliniker för att utvärdera två modifikationer av den procedur FDA godkänt för preparation av SurePath® objektglas. Modifikationerna av den godkända processen för preparation av SurePath® objektglas var följande:

- Tillägg av tillbehöret PrepMate® (PrepMate®-metoden), som automatiserar de initiala stegen i PrepStain®-laboratorieprocessen. PrepMate® blandar och avlägsnar automatiskt provet från SurePath® konserveringsflaskor och lagrar provet i PrepStain® densitetsreagens i ett provrör.
- Tillägg av den manuella metoden, vid vilken man istället för att använda PrepStain®-instrumentet för cellsuspension och färgning av objektglasen, lagrar cellsuspensionen manuellt på objektglaset som färgas av laboratorietekniker.

Denna studie utvärderade över 400 fall i en maskerad jämförelse av de två alternativa metoderna till den för närvarande godkända proceduren att preparera SurePath® objektglas. Jämförelsen var baserad på morfologiska och kvalitetskriterier som tillämpats på objektglasen, vilka preparerats med respektive metod.

Studiens primära mål var att:

- Utvärdera de morfologiska och kvalitetsmässiga aspekterna av SurePath® objektglas som preparerats med PrepMate®-metoden jämfört med objektglas som preparerats med den godkända metoden med användning av PrepStain®-systemet (kallas PrepStain®-metoden).
- Utvärdera de morfologiska och kvalitetsmässiga aspekterna av SurePath® objektglas som preparerats med den manuella metoden jämfört med objektglas som preparerats med den godkända PrepStain®-metoden.

Studiens övriga mål var att:

- Fastställa om graden av överensstämmelse mellan den godkända PrepStain®-metoden och PrepMate®-metoden var större än vad man kunde förvänta sig slumpmässigt.
- Fastställa om graden av överensstämmelse mellan den godkända PrepStain®-metoden och den manuella metoden var större än vad man kunde förvänta sig slumpmässigt.
- Bedöma provernas lämplighet enligt standarderna för PrepStain®-systemet för preparation av SurePath® objektglas med PrepMate®-metoden.
- Bedöma provernas lämplighet enligt standarderna för PrepStain®-systemet för preparation av SurePath® objektglas med den manuella metoden.

TILLBEHÖRET PREPMATE®

PrepMate® är ett tillbehör till PrepStain®-systemet som automatiserar två manuella steg - provblandning och lagring - i PrepStain® laboratorieprocess. PrepMate® blandar noga och avlägsnar på korrekt sätt provet från SurePath® konserveringsflaskor och lagrar provet i PrepStain® densitetsreagens i ett provrör. Ett provrörställs som i förväg fyllts med provflaskor, sprutpipetter och provrör (innehållande densitetsvätska) placeras på instrumentets bricka. Stället har plats för upp till tolv flaskor, provrör och sprutpipetter som är ordnade i tre rader med fyra i varje. Flaskor, sprutpipetter och provrör är avsedda för engångsbruk. De får endast användas en gång för att utesluta risken för provkontamination.

MANUELL METOD

Vid den manuella metoden används en manuell procedur för att lagra cellsuspensionen på objektglasen och färga preparationen. Den gynekologiska provtagningen och bearbetningen är identisk vid både den manuella och den godkända PrepStain®-metoden fram till den punkt där PrepStain®-instrumentet skall användas.

Vid PrepStain®-metoden placeras centrifugerade cellkolor direkt i PrepStain®-instrumentet för automatisk bearbetning för att producera färgade SurePath® objektglas.

Vid den manuella metoden tillsätts avjoniserat vatten till den centrifugerade cellpelletsen följt av vortexblandning för att återsuspendera och randomisera provet. Provet överförs till en stagnationskammare som är monterad på ett SurePath® PreCoat objektglas. När provet har placerats på objektglaset färgas det med en Papanicolaou batchfärgningsprocedur.

OBJEKTGLASENS TILLFÖRLITLIGHET

Tabell 17 visar objektglasens tillförlitlighet när det gäller objektglas i kliniska studier. Det är viktigt att notera att studieuppsättningen bestod av **tre objektglas per fall**.

Tabell 17 Objektglasens tillförlitlighet

	Fall	Objektglas
Totalt antal som enrollerats i studien	471	1 413
Totalt antal som uteslutits från analys	-68	-204
Ofullständig dokumentation	-39	-117
Felaktigt preparerade objektglas	-24	-72
Andra orsaker till uteslutande*	-5	-15
Totalt antal som ingick i analysen	403	1 209

* Prover som saknas, dubletter på patientnummer m.m.

DEMOGRAFISK INFORMATION OM POPULATIONEN

I tabell 18 anges demografiska uppgifter om patienternas åldrar för alla fall som ingick i studiepopulationen.

Tabell 18 Demografiska uppgifter om patienterna

Ålder	Antal fall
19 eller yngre	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Totalt	403

I tabell 19 anges aktuell klinisk information och i tabell 20 klinisk historik för alla fall som ingick i studiepopulationen. Observera att val av fler än en post var tillåtet, så det totala antalet fall kanske inte överensstämmer med det totala antalet fall i studiepopulationen.

Tabell 19 Aktuell klinisk information

Klinisk information	Antal fall
Cyklisk	241
Oregelbunden cykel	69
Hysterektomi	16
Gravid	9
Efter abort	0
Efter förlossning	9
Efter klimakteriet	58
I klimakteriet	1
Nedsatt immunförsvar	0
Onormal gynekologisk bjudning	0
Vaginala flytningar	137
Behandlas med östrogensättning	19
IUD	2
Orala preventivmedel/implantat	20
Inget preventivmedel	181
Information ej tillgänglig	22

Tabell 20 Klinisk historik

Historik	Antal fall
Tidigare onormal cytologi	13
Historik med onormala blödningar	36
Biopsi	3
Cancerhistorik	1
Kemoterapi	0
Strålbehandling	0
Kolposkopi	9
HIV/AIDS	0
HPV (vårtvirus)	0
Herpes	1
BTL-historik*	1
PID-historik*	57
Inga noteringar	363

* Bilateral tubal ligation
* Inflammatorisk sjukdom i bäckenet

STUDIERESULTAT

Syftet med denna studie var att avgöra om SurePath® objektglas som preparerats med PrepMate®-respektive manuella metoden stod sig bra i jämförelse med objektglas som preparerats med den godkända PrepStain®-metoden. Kliniska data visar att objektglas som preparerats med PrepMate®- och manuella metoden är jämförbara vad avser morfologi och kvalitet med objektglas som preparerats med den godkända PrepStain®-metoden.

Kliniska data visar också att den diagnostiska prestandan är densamma för PrepMate®- och den manuella metoden jämfört med den godkända PrepStain®-metoden. Dessutom skiljer sig inte lämpligheten på objektglas som preparerats med PrepMate®- och manuella metoden från objektglas som preparerats med den godkända PrepStain®-metoden. Dessa fynd stödjer jämförbarheten mellan PrepMate®- och den manuella metoden med den godkända PrepStain®-metoden.

PROVERNAS MORFOLOGI OCH KVALITET

I tabell 21 visas resultatet för de primära målsättningarna. Accepterbarheten för objektglas som preparerats med de olika metoderna utvärderades enligt de morfologi- och kvalitetskriterier som anges i tabellen. För varje kriterium beräknades andelen acceptabla objektglas tillsammans med motsvarande exakta 95 % konfidensintervall.

Tabell 21 Jämförelse av frekvenser och konfidensintervall (KI) för kriteriet accepterbarhet

		PrepStain®		PrepMate®		Manuell metod	
		Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI	Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI	Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI
Godtagbara kriterier	Färgning	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Klarhet	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999
	Nukleärt	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999
	Cytologi	0,9950 (401/403)	0,9822 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909 1,0000
	Klusterbildning	0,9926 (400/403)	0,9784 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Cellularitet	0,9305 (375/403)	0,9011 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127 0,9615

Accepterbarhetsfrekvenserna för PrepMate®- och den manuella metoden är nästan alltid lika med eller högre än PrepStain®-metoden. Dessutom överlappar i hög utsträckning det 95 % exakta konfidensintervallet för PrepMate® och den manuella metoden för den godkända PrepStain®-metoden för varje kriterium. Detta tyder på att objektglas som preparerats med PrepMate®- och den manuella metoden är jämförbara vad avser morfologi och kvalitet med objektglas som preparerats med den godkända PrepStain®-metoden. Därför är prepareringens kvalitet densamma för den godkända metoden och de båda testmetoderna.

DIAGNOSTISK ÖVERENSSTÄMMELSE

Denna analys jämför diagnoserna på objektglas som preparerats med de olika metoderna. Eftersom dessa data deriverats från delade prover är de diagnosmatriser som presenteras i tabell 22 och tabell 23 baserade på parvisa prover med var och en av de olika prepareringsmetoderna för testobjektglasen (PrepMate®- och manuell metod) som jämförs med den godkända PrepStain®-metoden. Idealiskt skulle diagnosen som erhålls från objektglas som preparerats med de båda metoderna vara densamma. Detta representeras av antalet objektglas med identiska diagnoser, som visas på huvuddiagonalen i varje tabell.

Det första måttet på överensstämmelse är andelen objektglas på den huvudsakliga diagonalen och motsvarande exakta 95 % konfidensintervall. Det andra måttet på överensstämmelse erhålls från kappastatistik, som beräknades för varje jämförelse och testades. Testet fastställer om graden av överensstämmelse mellan de båda metoderna är högre än vad man kunde förvänta sig slumpmässigt. Eftersom observationerna är ordnade är det viktigare att ha observationer som ligger på eller nära huvuddiagonalen. Den viktade kappastatistiken lägger mer vikt på observationer som ligger på eller nära huvuddiagonalen i tabellerna.

JÄMFÖRELSE AV GODKÄNDA PREPSTAIN®- OCH PREPMATE®-METODER

I tabell 22 är antalet objektglas på huvuddiagonalen 367 (2+334+8+6+5+11+1) och andelen objektglas på huvuddiagonalen är 0,9107 (367/403) med exakt 95 % konfidensgränser från 0,8785 till 0,9366.

Om otillfredsställande objektglas utesluts från tabellen genom att radera den första raden och första kolumnen kvarstår 397 objektglas. Andelen objektglas på huvuddiagonalen är 0,9194 (365/397) med 95 % konfidensgränser från 0,8881 till 0,9442.

De resultat som visas i tabell 22 tyder på att den godkända PrepStain®-metoden samt PrepMate®-metoden har en högre andel objektglas med diagnostisk överensstämmelse, vilket anges av andelen objektglas på huvuddiagonalen i tabellen. Vidare tyder den viktade kappaanalysen på att överensstämmelsen var mycket högre än vad som kan hänföras till enbart slumpen.

Tabell 22 Korstabulering av diagnoser med PrepStain®- och PrepMate®-metoderna

		Diagnoser med PrepStain®-metoden									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atyp	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totalt
Diagnoser med PrepMate®-metoden	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atyp	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Totalt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

JÄMFÖRELSE AV GODKÄNDA PREPSTAIN®- OCH MANUELLA METODER

I tabell 23 är antalet objektglas på huvuddiagonalen 353 (3+315+6+10+7+11+1). Andelen objektglas på huvuddiagonalen är 0,8759 (353/403). De exakta binominella 95 % konfidensgränserna för denna proportion är 0,8397 till 0,9065.

Om otillfredsställande objektglas utesluts från tabellen genom att radera den första raden och första kolumnen kvarstår 398 objektglas. Andelen objektglas på huvuddiagonalen är 0,8794 (350/398) med 95 % konfidensgränser från 0,8433 till 0,9097. De resultat som visas i tabell 23 tyder på att den godkända PrepStain®-metoden och den manuella metoden har en hög andel objektglas med diagnostisk överensstämmelse, vilket anges av andelen objektglas på huvuddiagonalen i tabellen. Vidare tyder den viktade kappaanalysen på att överensstämmelsen var mycket högre än vad som kan hänföras till enbart slumpen. Därför är den diagnostiska prestandan densamma för den godkända metoden och de båda testmetoderna.

Tabell 23 Korstabulering av diagnoser med PrepStain®- och manuella metoder

		Diagnoser med PrepStain®-metoden									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atyp	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totalt
Manuell metoddiagnos	UNSAT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atyp	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Totalt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

OBJEKTGLASENS LÄMPLIGHET

Objektglasens lämplighet bedömdes för var och en av prepareringsmetoderna. Datan analyserades med ett tvåsidigt McNemar-test.¹⁸

I tabell 24 visas lämplighetsresultateten vid jämförelse av den godkända PrepStain®-metoden med PrepMate®-metoden.

Tabell 24 Lämplighetsresultat för objektglas från PrepMate®- och PrepStain®-metoderna

Resultat med PrepStain®				
Metodresultat				
Resultat med PrepMate®-metoden	SAT eller SBLB	UNSAT		
	398	3	401	
	0	2	2	
	398	5	403	

I tabell 25 visas lämplighetsresultaten vid jämförelse av den godkända PrepStain®-metoden och den manuella metoden.

Tabell 25 Lämplighetsresultat för objektglas från den manuella metoden och PrepStain®-metoden

Resultat med PrepStain®				
Metodresultat				
Resultat med den manuella metoden	SAT eller SBLB	UNSAT		
	398	2	400	
	0	3	3	
	398	5	403	

Dessa båda jämförelser visar att PrepMate®- och den manuella metoden inte skiljer sig från den godkända PrepStain®-metoden vad avser objektglasens lämplighet.

STUDIE – “DIREKT I FLASKAN”

Efter det initiala FDA-godkännandet av PrepStain®-systemet genomförde TriPath Imaging en stor, undersökning på flera kliniker av PrepStain®-systemet vid användning på avsett sätt med prover direkt i flaskan. Vid tidigare kliniska studier användes en metod med delade prover, där provet först användes för att skapa ett konventionellt objektglas med Pap-test och resterande prov placerades i SurePath® uppsamlingslösning och bearbetades av PrepStain®-systemet för att skapa ett SurePath®-objektglas. Det är fastställt att upplägg med delade prover underskattar den verkliga prestandan på det test som prepareras från rester av cellulärt material¹².

Studien jämförde prestandan hos SurePath®-objektglas som framställts av prover direkt från flaskan med konventionella Pap-test. Resultaten som erhöles med SurePath® jämfördes med resultaten som erhöles med en historisk samling konventionella cellutstryk. Denna studie utvärderade specifikt huruvida SurePath® objektglas förbättrade detektionen av högradiga skvamosa intraepiteliala lesioner (HSIL), adenocarcinom in situ och cancer (HSIL+). Alla tillgängliga biopsidata samlades in för båda objektglaspopulationerna.

SurePath®-populationen bestod av 58 580 objektglas som samlats in prospektivt från 57 kliniker, som hade omvandlat nästan 100 % från en konventionell Pap-testsamling till SurePath®-provsamlingen. Proverna som samlades in på dessa kliniker skickades till tre kliniker för bearbetning.

Den konventionella populationen bestod av 58 988 objektglas från samma kliniker som SurePath®-objektglasen. Den här historiska populationen samlades in med början med de senaste objektglasen innan klinikerna omvandlade dessa till SurePath® och gick sedan bakåt i tiden tills de konventionella och SurePath®-objektglaspopulationerna på varje klinik var ungefär lika många till antalet.

Resultaten från studien visade en detektionsfrekvens på 405/58 580 för SurePath®-objektglasen jämfört med 248/58 988 för de konventionella objektglasen, vilket innebar detektionsfrekvenser på 0,691 % respektive 0,420 % (se tabell 26). För dessa kliniker och studiepopulationer tyder detta på en 64,4 % (p<0,00001) ökning av detektionen av HSIL+-lesioner för SurePath®-objektglasen.

Tabell 26 Jämförelse av detektionsfrekvenser efter klinik

Klinik	Konventionellt			SurePath®		
	Totalt	HSIL+	Procent (%)	Totalt	HSIL+	Procent (%)
1	41 274	216	0,523	40 735	300	0,736
2	10 421	19	0,182	10 676	78	0,731
3	7 293	13	0,178	7 169	27	0,377
Totalt	58 988	248	0,420	58 580	405	0,691

Klinik	Konventionellt			SurePath®		
	Totalt	LSIL+	Procent (%)	Totalt	LSIL+	Procent (%)
1	41 274	765	1,853	40 735	1 501	3,685
2	10 421	96	0,921	10 676	347	3,250
3	7 293	99	1,357	7 169	127	1,772
Totalt	58 988	960	1,627	58 580	1 975	3,371

Klinik	Konventionellt			SurePath®		
	Totalt	ASCUS+	Procent (%)	Totalt	ASCUS+	Procent (%)
1	41 274	1 439	3,486	40 735	2 612	6,412
2	10 421	347	3,330	10 676	689	6,454
3	7 293	276	3,784	7 169	285	3,975
Totalt	58 988	2 062	3,496	58 580	3 586	6,122

Klinik	Konventionellt			SurePath®SurePath®		
	Totalt	UNSAT+	Procent (%)	Totalt	UNSAT+	Procent (%)
1	41 274	132	0,320	40 735	37	0,091
2	10 421	163	1,564	10 676	89	0,834
3	7 293	20	0,274	7 169	4	0,056
Totalt	58 988	315	0,534	58 580	130	0,222

Ann: Variationer i prestandan mellan olika kliniker förväntas. Varje laboratorie måste noga övervaka kvaliteten på sitt arbete.

PROCEDUR

Fullständiga procedurer för preparering av SurePath®-objektglas beskrivs i bruksanvisningen till PrepStain®-systemet.

LITTERATURFÖRTECKNING

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich[®] System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyt PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich[®]: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyt preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich[®] specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

FÖRETAGETS NAMN OCH ADRESS

TriPath Imaging[®], Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA (800) 426-2176 (inom USA)
~~TRIPATH-IMAGING~~[®]

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
Information om PrepStain[®]: (800) 426-2176 (inom USA) eller +1 336-222-9707
Fax: +1 336-222-8819.
Amerikanska patentnummer: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Kanadensiska patentnummer: 2,105,826, 2,106,343, 2,105,828.
Japanska patentnummer: 2837076, 2781513.
Europeiska patentnummer: 0590504, 0590447, 0590506B.
Fler patent har sökts i USA och andra länder.

MDCI Ltd
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL
Storbritannien

EC REP
Auktoriserad representant

©2008 TriPath Imaging, Inc. Med ensamrätt.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Система PrepStain® (предыдущее название — AutoCyte® PREP System) представляет собой процесс приготовления тонкослойных клеточных препаратов на жидкой основе. Система PrepStain® позволяет получить микропрепараты SurePath®, призванные заменить обычные гинекологические мазки по Папаниколу. Микропрепараты SurePath® (ранее — микропрепараты AutoCyte® PREP) предназначены для проверки и выявления рака шейки матки, предраковых поражений, атипичных клеток и всех прочих цитологических категорий по классификации Бетесда (классификация цервикально-вагинальных цитологических диагнозов).^{1, 19}

КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

Система PrepStain® превращает жидкую суспензию взятого образца цервикальных клеток в дискретно окрашенный, равномерный тонкий слой клеток, в то же время не разрушая необходимые для диагностики скопления клеток.²⁻⁹ Процесс включает в себя консервацию клеток, их рандомизацию, обогащение диагностическим материалом, пипетирование, осаждение, окрашивание и покрытие покровным стеклом. Получившийся микропрепарат SurePath® может использоваться для обычного цитологического скрининга и категоризации по классификации Бетесда (классификация цервикально-вагинальных цитологических диагнозов).¹ Микропрепарат представляет собой сохранную популяцию окрашенных клеток, представленных в круге диаметром 13 мм. Воздушные артефакты, помехи, затрудняющие видимость, перекрытие клеточного материала и инородные тела в основном устранены. Количество лейкоцитов существенно снижено, что ведет к лучшей видимости эпителиальных клеток, инфекционных микроорганизмов и клеток, важных для постановки диагноза.

Процесс начинается с того, что квалифицированный медицинский персонал берет гинекологический мазок с помощью приспособления типа «метелка» (например, Cervex Brush® компании Rovers Medical Devices B.V., Oss, Нидерланды) или эндоцервикального комбинированного устройства типа щеточки-шпателя (например, Cytobrush® Plus GT или Pap Perfect® компании Medscand (USA) Inc., г. Трамбалл, штат Коннектикут, США). Собранные клетки не размазываются по предметному стеклу; вместо этого головка устройства снимается и помещается в пробирку с жидким консервантом SurePath®. Пробирку закрывают пробкой, прикрепляют к ней этикетку и отправляют в сопровождении соответствующих документов в лабораторию для обработки. Головки устройств для забора проб не вынимаются из пробирок с консервантом, содержащих взятый мазок.

В лаборатории законсервированный образец перемешивают на устройстве для встряхивания, а затем переносят на плотный реагент системы PrepStain®. Стадия обогащения, состоящая из осаждения препарата на центрифуге через плотный реагент, частично удаляет из препарата ненужные для диагностики примеси и избыточные клетки зоны воспаления. После центрифугирования осажденные клетки вновь суспендируются, смешиваются и переносятся в осадочную камеру системы PrepStain®, установленную на предметное стекло SurePath® PreCoat. Клетки осаждаются под действием силы тяжести, а затем окрашиваются по модифицированной процедуре Папаниколу. Предметное стекло освещается ксилолом или веществом, эквивалентным ксилолу, а затем покрывается покровным стеклом. Клетки, представленные в круге диаметром 13 мм, изучает под микроскопом квалифицированный цитотехнолог или патоморфолог, имеющий доступ к другой важной информации о пациенте.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Гинекологические мазки для препаратов, получаемых с помощью системы PrepStain®, должны забираться с помощью приспособления типа «метелка» или эндоцервикального комбинированного устройства типа щеточки-шпателя со съемной головкой (головками) в соответствии со стандартной процедурой взятия мазка, определенной производителем. С системой PrepStain® не следует использовать деревянные шпатели или несъемные эндоцервикальные щеточки-шпатели.
- Персонал, занятый в получении препаратов SurePath® и диагностике на их основе, обязательно должен пройти тренинг у авторизованных специалистов. Цитотехнологи и патоморфологи проходят обучение оценке морфологии на препаратах SurePath®. Тренинг включает в себя экзамен на умение пользоваться системой. Сотрудникам лаборатории вручаются учебные комплекты микропрепаратов и взятия мазка. Компания TriPath Imaging®, Inc. также оказывает содействие в приготовлении учебных микропрепаратов из биоматериала пациентов каждого клиента.
- Для получения качественных результатов с помощью системы PrepStain® следует использовать только материалы, поставляемые или рекомендуемые компанией TriPath Imaging. Использованные материалы должны быть надлежащим образом утилизированы в соответствии с инструкциями учреждения и действующим законодательством.
- Все материалы предназначены для однократного использования и не должны быть использованы повторно.

Реактивы



Для диагностики in vitro. Только для лабораторного использования.

Предупреждения



Жидкий консервант SurePath® содержит водный раствор денатурированного этилового спирта. Смесь содержит небольшие доли метилового и изопропилового спиртов. Не для принятия внутрь.



Плотный реагент PrepStain® содержит азид натрия. Не для принятия внутрь. Азид натрия может реагировать с медными и свинцовыми трубами, образуя высоковзрывчатые азиды металлов. Для утилизации смойте большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов. Дополнительную информацию можно получить в публикации DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, выпускаемой Центрами контроля заболеваний. См. веб-сайт: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Краситель EA/OG для цитологических препаратов PrepStain® содержит спирт. Токсичен при приеме внутрь. Не вдыхать пары. Использовать при соответствующем уровне вентиляции. Избегать попадания на глаза и кожу. Огнеопасно.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Следует соблюдать технику безопасности при работе в лаборатории, а также все процедуры, рекомендованные при использовании системы PrepStain®.
- Реактивы хранить при комнатной температуре (от 15 до 30°C) и использовать до истечения срока годности. Срок хранения жидкого консерванта SurePath® без цитологических образцов при комнатной температуре (от 15 до 30°C) — до 36 месяцев со дня изготовления. Срок хранения жидкого консерванта SurePath® с цитологическими образцами — до 6 месяцев в холодильнике (от 2 до 10°C) или 4 недели при комнатной температуре (от 15 до 30°C).
- Жидкости нельзя распылять и распылять. Технологи должны использовать соответствующие средства защиты для рук и глаз, а также защитную одежду.
- Жидкий консервант SurePath® был проверен на эффективное действие против следующих микробов: Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis и Aspergillus niger, и его эффективность подтвердилась. В образцах консерванта SurePath®, куда были внесены 10⁶ КОЕ/мл каждого вида, не наблюдалось роста после инкубационного периода 14 дней (28 дней для Mycobacterium tuberculosis) в стандартных условиях. Однако следует постоянно соблюдать общую технику безопасности по обращению с биологическими жидкостями.
- Нарушение рекомендованных процедур, описанных в «Руководстве по эксплуатации системы PrepStain®», может снизить качество результатов.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Полную информацию о реактивах, компонентах и аксессуарах, нужных для работы системы PrepStain®, можно найти в «Руководстве по эксплуатации системы PrepStain®». Для ручного приготовления микропрепаратов SurePath® (без использования инструментов SurePath®) могут понадобиться не все перечисленные ниже материалы.

Предоставляемые материалы

- Инструмент PrepStain®
- Пробирка для забора мазка с жидким консервантом SurePath® (содержит жидкий консервант SurePath®)
- Устройство (устройства) со съемным наконечником (наконечниками) для взятия цервикального мазка
- Плотный реагент PrepStain®
- Шприц-пипетки PrepStain®
- Осадочные камеры PrepStain®
- Комплект для цитологического окрашивания
- Предметные стекла SurePath® PreCoat
- Центрифужные пробирки
- Штативы для предметных стекол и пробирок
- Одноразовые наконечники для переноса и аспиратора

Необходимые, но не поставляемые материалы

- Устройство для встряхивания
- Деионизированная вода (pH 7,5–8,5)
- Изопропиловый и химически чистый этиловый спирт.
- Осветляющее средство, среда для заливки и покровные стекла

Хранение

Срок хранения жидкого консерванта SurePath® без цитологических образцов при комнатной температуре (от 15 до 30°C) — до 36 месяцев со дня изготовления.

Срок хранения жидкого консерванта SurePath® с цитологическими образцами — до 6 месяцев в холодильнике (от 2 до 10°C) или 4 недели при комнатной температуре (от 15 до 30°C).

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ И ПРАВИЛЬНОСТЬ ПРИГОТОВЛЕНИЯ

После обучения использованию системы PrepStain® и слайдов SurePath®, авторизованной компанией TriPath Imaging, к слайдам SurePath® можно применять критерии цитологической классификации Бетесда, в настоящее время применяемые в цитологических лабораториях для традиционных мазков по Папаниколу.¹ Новые

инструкции, рекомендованные системой отчетности Бетесда 2001, учитывают существование препаратов на жидкой основе и содержат процедуры для определения клеточного статуса именно для таких препаратов.

При отсутствии патологических клеток препарат считается некачественным, если выполнено одно или несколько из следующих условий:

- (1) Мало диагностических клеток (менее 5 000 клеток плоского эпителия на препарат). Для приблизительного подсчета хорошо сохранившихся клеток плоского эпителия на слайдах SurePath® рекомендуются следующие процедуры:
- Для каждой модели микроскопа, используемой при скрининговом исследовании, ознакомьтесь с инструкцией к микроскопу или свяжитесь с производителем микроскопа, чтобы определить площадь поля зрения микроскопа с используемым вами окуляром и объективом с 40-кратным увеличением. Другой способ состоит в вычислении площади поля с помощью гемоцитометра или иного инструмента измерения для микроскопических препаратов (площадь поля равна πr^2 , где r — радиус поля).
 - Минимальное среднее число клеток в поле зрения объектива с 40-кратным увеличением следует определить, разделив площадь осаждения клеток на микропрепарате SurePath®, равную примерно 130 мм², на площадь поля для конкретного микроскопа. Получившееся число затем следует разделить на минимум 5 000 клеток. Результат представляет собой рекомендованное минимальное среднее количество эпителиальных клеток в поле зрения объектива с 40-кратным увеличением для качественного образца. Запишите этот результат и сохраните запись для последующего использования цитотехнологом. Инструкции Бетесда 2001 указывают приблизительное число клеток на поле для препарата диаметром 13 мм.
 - Если центрального диаметра препарата по вертикальной или горизонтальной оси должно уместиться как минимум 10 полей.
 - На практике для оценки целлюлярности с целью установить качество препарата можно использовать макроскопическую оценку визуальной плотности окрашенного препарата. Однако в процессе скрининга образец все равно должен пройти первичную проверку под микроскопом у цитотехнолога.
- (2) 75 % или более клеточных компонентов скрыты воспалением, кровью, бактериями, слизью или артефактами, мешающими цитологической интерпретации препарата.

Любые anomальные или сомнительные явления, обнаруженные при скрининге, должны быть направлены патологу для ознакомления и диагноза. Патолог должен заметить любые диагностически значимые морфологические изменения клеток.

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА: ОТЧЕТ О КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
ПЕРВОЕ КОМБИНИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Компания TriPath Imaging провела проспективное комбинированное многоцентровое клиническое исследование парным слепым методом для сравнения диагностических результатов, полученных с помощью микропрепаратов SurePath®, подготовленных по системе PrepStain®, с мазками, приготовленными традиционным методом по Папаниколу. Целью исследования была оценка качества препаратов SurePath® в сравнении с традиционным мазком по Папаниколу для выявления рака шейки матки, предраковых поражений и атипичных клеток в различных популяциях пациентов и в различных лабораторных условиях. Оценивалось также качество препаратов, приготовленных обоими методами.

Согласно рекомендациям Федерального управления по лекарственным средствам США (FDA) «Points to Consider» для приборов цервикальной цитологии¹⁰, сначала приготавливался традиционным методом мазок по Папаниколу, затем остаточный образец, оставшийся на наконечнике типа «метелка», помещался в пробирку для забора мазка с жидким консервантом SurePath®.

После транспортировки в лабораторию суспензию клеток в консерванте обрабатывали согласно протоколу системы PrepStain®. Получившийся микропрепарат SurePath® и соответствующий ему традиционный микропрепарат мазка по Папаниколу просматривались вручную, и на их основе ставились независимые диагнозы по классификации Бетесда. В каждой лаборатории все микропрепараты с патологией просматривал патоморфолог.

В соответствии с методом, описанным в работе Шацкина¹¹, в этом исследовании участвовал независимый патолог в специально выбранной лаборатории, куда в немаркированном виде направлялись все образцы с патологией, образцы с расхождением, образцы с репаративными изменениями и 5 % нормальных образцов из всех пунктов проведения испытаний для обеспечения диагностической «истины» для каждого образца.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОК

В испытании участвовали женщины в возрасте от 16 до 87 лет, из них 772 в постменопаузальном периоде. Из 8 807 пациенток, участвовавших в испытании, 1 059 имели в анамнезе anomальные цервикальные мазки. По расовым признакам пациентки делились на следующие группы: европейского происхождения (44 %), чернокожие (30 %), азиатского происхождения (12 %), латиноамериканки (10 %), американские индейцы (3 %) и прочие (1 %).

Из испытания исключались пациентки с неправильной документацией, не достигшие 16 лет, перенесшие гистерэктомию, а также неудовлетворительные с цитологической точки зрения и некачественные образцы. Была сделана попытка получить как можно больше препаратов с раком шейки матки и предраковыми состояниями. Для этого в исследование включались пациентки из группы риска, редко проходившие скрининг, а также пациентки, направленные на лечение.

Из 10 335 случаев 9 046 были приняты для исследования, и их мазки изучались в 8 различных лабораториях. Из этих 9 046 случаев 8 807 отвечали требованиям системы Бетесда к качеству препаратов, и оба препарата были доступны для полного диагноза.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью клинических испытаний было сравнение результаты использования микропрепаратов SurePath®, подготовленных по системе PrepStain®, с мазками, приготовленными традиционным методом по Папаниколу. Микропрепараты обоих типов препаратов классифицировались по системе Бетесда. Протокол исследований был необъективен в пользу традиционного мазка по Папаниколу, поскольку этот препарат готовили первым, таким образом ограничивая препарат SurePath® остаточным материалом, оставшимся на наконечнике типа «метелка» (традиционно эта часть мазка утилизируется).¹² Мазок методом SurePath® по замыслу его создателей должен переноситься непосредственно в пробирку, и все собранные клетки должны быть направлены на получение образца по системе PrepStain®.

Для сравнения чувствительности микропрепаратов SurePath® и традиционных микропрепаратов по Папаниколу, просматриваемых вручную, уровень anomальности препарата определялся сторонним патоморфологом и сравнивался с диагнозами, сделанными в лабораториях, где проводилось испытание. Эталонный диагноз делался независимым сторонним патологом на основании наиболее anomального диагноза любого из препаратов. Результат использовался как «истинный» диагноз для сравнения результатов, полученных в лаборатории методом системы PrepStain® с микропрепаратами SurePath®, с одной стороны, и традиционным методом мазка по Папаниколу, с другой. Нулевая гипотеза состояла в том, что чувствительность обоих методов приготовления микропрепарата одинакова. Эта гипотеза проверялась по критерию Макнемара (хи-квадрат для парных данных).¹³ По этому статистическому методу сравнивались несопадающие результаты для двух методов приготовления препарата.

В таблице 1 содержится непосредственное сравнение результатов из всех лабораторий при использовании SurePath® с результатами использования стандартных препаратов для диагностических категорий «в пределах нормы» (ВПН), «атипия плоскоклеточная неопределенной значимости/атипичные железистые клетки неопределенной значимости» (АПНЗ/АЖКНЗ), «плоскоклеточное интраэпителиальное поражение низкой степени» (Н-ПИП), «плоскоклеточное интраэпителиальное поражение высокой степени» (В-ПИП), «рак» (СА).

Таблица 1 Первое комбинированное исследование: 8 807 парных образцов — сравнение результатов, полученных в лабораториях, без стороннего патоморфолога

Результаты по лабораториям								
Лаб. №	Тип микр-о-препарат а	ВПН	АПНЗ	АЖКНЗ	Н-ПИП	В-ПИП	СА	Всего
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1514	47	4	81	24	0	1670
	CN	1560	33	6	40	31	0	1670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1302	60	2	19	5	0	1388
	CN	1326	37	2	19	4	0	1388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1272	179	6	83	35	1	1576
	CN	1258	209	9	68	30	2	1576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1227	61	3	86	44	2	1423
	CN	1209	57	0	94	61	2	1423
Всего	SP	7759	509	36	342	135	26	8807
	CN	7768	531	39	271	177	21	8807

SP — препараты SurePath®
CN — препараты, приготовленные традиционным методом

В таблице 2 содержится непосредственное сравнение результатов из всех лабораторий при использовании SurePath® с результатами использования препаратов мазка по Папаниколу, приготовленных традиционным способом, для всех диагностических категорий.

Таблица 2 Первое комбинированное исследование: 8 807 парных образцов сравнение результатов, полученных в лабораториях, без стороннего патолога

		Мазок по Папаниколау, приготовленный традиционным методом						
		ВПН	АПНЗ	АЖКНЗ	Н-ПИП	В-ПИП	СА	Всего
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	ВПН	7290	361	20	63	24	1	7759
	АПНЗ	343	101	4	44	15	2	509
	АЖКНЗ	26	6	4	0	0	0	36
	Н-ПИП	87	52	2	147	53	1	342
	В-ПИП	20	10	7	17	79	2	135
	СА	2	1	2	0	6	15	26
	Всего	7768	531	39	271	177	21	8807

В таблицах 1 и 2 не отражены результаты исследований независимого стороннего патолога.

Таблица 3 Первое комбинированное исследование: сравнение всех результатов лабораторий для препаратов, которые независимым исследованием были диагностированы как АПНЗ/АЖКНЗ — анализ несовпадений

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	113	205	318
	Ошибка	180	229	409
		293	434	727

Успех = АПНЗ/АЖКНЗ
Ошибка = ВПН и реактивные/репаративные состояния

Результат теста Макнемара: $X^2_{mc} = 1,62, p = 0,2026$
Количество ошибок для традиционного метода: 205
Количество ошибок для метода SurePath®: 180

В таблице 3 показаны результаты для случаев, которые сторонний патоморфолог диагностировал как АПНЗ или АЖКНЗ. Эта оценка позволяет с помощью анализа несовпадений оценить чувствительность методов во время дизайна испытаний комбинированным методом. Ошибки включают в себя ВПН и реактивные/репаративные состояния. Поскольку значение p по тесту Макнемара превысило 0,05, микропрепараты SurePath® и мазки, получаемые традиционным методом по Папаниколау, дают эквивалентные результаты.

Таблица 4 Первое комбинированное исследование: сравнение всех результатов лабораторий для препаратов, которые независимым исследованием были диагностированы как Н-ПИП — анализ несовпадений

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	140	63	203
	Ошибка	54	86	140
		194	149	343

Успех = Н-ПИП
Ошибка = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ

Результат теста Макнемара: $X^2_{mc} = 0,69, p = 0,4054$
Количество ошибок для традиционного метода: 63
Количество ошибок для метода SurePath®: 54

В таблице 4 показаны результаты для случаев, которые сторонний патолог диагностировал как Н-ПИП. Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния и АПНЗ/АЖКНЗ. Как и в случае с АПНЗ/АЖКНЗ, чувствительность двух методов в испытании комбинированным методом оказалась статистически эквивалентной, со значением p, превышающим 0,05.

Таблица 5 Первое комбинированное исследование: сравнение всех результатов лабораторий для препаратов, которые независимым исследованием были диагностированы как В-ПИП+ — анализ несовпадений (диагноз Н-ПИП не считался ошибкой)

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	160	28	188
	Ошибка	36	38	74
		196	66	262

Успех = В-ПИП+
Ошибки = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ

Результат теста Макнемара: $X^2_{mc} = 1,00, p = 0,3173$
Количество ошибок для традиционного метода: 28
Количество ошибок для метода SurePath®: 36

В таблице 5 показаны результаты для случаев, которые сторонний патолог диагностировал как В-ПИП+. В этом сравнении диагноз Н-ПИП считался не ошибкой, а отклонением^{10,14,15}. Ошибки включали в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния и АПНЗ/АЖКНЗ. Анализ чувствительности ошибок расхождения показал статистическую эквивалентность методов при комбинированном испытании.

Таблица 6 Первое комбинированное исследование: анализ несовпадений для случаев рака (диагноз В-ПИП не считается ошибкой; диагноз Н-ПИП считается ошибкой)

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	19	2	21
	Ошибка	5	1	6
		24	3	27

Успех = рак
Ошибки = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП

Результат теста Макнемара: $X^2_{mc} = 1,645, p = 0,1980$
Количество ошибок для традиционного метода: 2
Количество ошибок для метода SurePath®: 5

В таблице 6 показаны результаты для случаев, которые эталонным методом были диагностированы как рак. Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ и Н-ПИП. Анализ чувствительности ошибок несовпадения показал статистическую эквивалентность методов. Эти 27 случаев рака были включены в повторное исследование. Данные можно найти в Таблице 9.

Таблица 7 Первое комбинированное исследование: сравнение всех результатов лабораторий для препаратов, которые независимым исследованием были диагностированы как В-ПИП+ — анализ несовпадений (диагноз Н-ПИП в данном исследовании считался ошибкой)

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	94	33	127
	Ошибка	67	68	135
		161	101	262

Успех = (В-ПИП+)
Ошибки = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП

Результат теста Макнемара: $X^2_{mc} = 11,56, p = 0,0007$
Количество ошибок для традиционного метода: 33
Количество ошибок для метода SurePath®: 67

В таблице 7 показаны результаты для случаев, которые сторонний патолог диагностировал как В-ПИП+. Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ и Н-ПИП. Хотя это не согласуется с первоначальным протоколом исследования¹⁰, было проведено статистическое сравнение методов, в котором

диагноз Н-ПИП считался ошибочным в случае, диагностированном как В-ПИП+ единственным независимым сторонним патологом. В этом статистическом сравнении диагностической чувствительности в случае, если Н-ПИП считается ошибкой, а не незначительным несовпадением, микропрепараты SurePath®, подготовленные по системе PrepStain®, не эквивалентны мазкам, приготовленным традиционным методом по Папаниколау, для выявления аномалий В-ПИП+ в комбинированном исследовании.

СЛЕПАЯ ПОВТОРНАЯ ОЦЕНКА СЛУЧАЕВ В-ПИП+

Чтобы определить, повлияли ли на результат качество препарата или субъективная интерпретация, была проведена новая оценка. Для оценки 262 случаев, диагностированных как В-ПИП+ в первоначальном исследовании (таблица 7), после реализации новой программы обучения для специалистов-цитологов, в которой делался упор на согласованность интерпретаций между различными диагностическими группами системы Бетесда, было проведено дополнительное исследование. Выявленные ранее случаи В-ПИП+ были повторно замаскированы как часть партии препаратов, направленных на повторную оценку, общим числом 2 438 образцов, приготовленных по тому же комбинированному протоколу. Затем результаты исследования двух препаратов в лаборатории сравнивались с новым эталонным значением, для получения которого должны были сойтись во мнениях по крайней мере два из трех независимых сторонних патологов по поводу наиболее патологического цитологического диагноза.

В процессе получения стороннего заключения для повторной оценки в случаях, когда эксперты не могли прийти к единому мнению, оба микропрепарата (SurePath®, полученный по системе PrepStain®, и полученный традиционным методом) проходили скрининг у второго цитотехнолога, и заново выявленные аномалии прибавлялись к выявленным во время первоначального скрининга. Затем три сторонних цитопатолога оценивали все случаи, вызвавшие разногласия, по слепому протоколу. Этот более строгий метод получения стороннего заключения снизил число направленных на рассмотрение случаев В-ПИП+ с 262 (первоначальное исследование) до 209 (повторная оценка). Оставшиеся 53 случая объясняются следующим образом: 48 случаев при оценке более строгим методом получения стороннего заключения были диагностированы как Н-ПИП или менее серьезные случаи; 3 образца при повторной оценке были сочтены некачественными; оставшиеся 2 были недоступны для оценки слепым методом в повторном исследовании.

Таблица 8 Повторное испытание: анализ несовпадений для 209 случаев В-ПИП+ из первоначального испытания, прошедших повторную оценку с более строгим методом для получения стороннего заключения с участием трех независимых сторонних специалистов

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	153	26	179
	Ошибка	24	6	30
		177	32	209

Успех = (В-ПИП+)
Ошибка = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП
Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Количество ошибок для традиционного метода: 26
Количество ошибок для метода SurePath®: 24

В таблице 8 показаны результаты для случаев, которые сторонний патолог диагностировал как В-ПИП+. Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ и Н-ПИП. В этом сравнении диагноз Н-ПИП считался ошибкой диагностики в случае, диагностированном как В-ПИП+ независимым сторонним патологом. Сравнение диагностической чувствительности показало статистическую эквивалентность обоих методов.

Таблица 9 Повторное испытание: анализ несовпадения для случаев рака (диагноз В-ПИП не считается ошибкой; диагноз Н-ПИП считается ошибкой)

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	32	3	35
	Ошибка	3	0	3
		35	3	38

Успех = рак
Ошибка = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП
Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Количество ошибок для традиционного метода: 3
Количество ошибок для метода SurePath®: 3

В таблице 9 показаны результаты для случаев, которые новым методом получения стороннего заключения были диагностированы как рак (по всем лабораториям). Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП. Была сделана одна ошибка в интерпретации Н-ПИП. Все остальные ошибки касались интерпретации слайдов с диагностированием их как АПНЗ/АЖКНЗ или ВПН. Анализ чувствительности ошибок несовпадения показал статистическую эквивалентность методов.

Повторное исследование слепым методом содержало 2 097 новых случаев, использованных, чтобы замаскировать полученные ранее препараты В-ПИП+. Анализ и сравнение препаратов новых случаев приводятся в таблице 10.

Таблица 10 Повторное испытание: 2 097 случаев — сравнение результатов, полученных в лабораториях, без стороннего патолога

		Мазок по Папаниколау, приготовленный традиционным методом					
		ВПН	АПНЗ	АЖКНЗ	Н-ПИП	В-ПИП	CA
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	ВПН	1561	128	0	47	30	0
	АПНЗ	80	37	1	6	8	1
	АЖКНЗ	9	7	0	0	1	0
	Н-ПИП	33	11	1	33	11	1
	В-ПИП	26	18	1	18	19	3
	CA	1	2	0	0	1	2
Всего		1710	203	3	104	70	7
							2097

Из 2 097 случаев, описанных выше, 77 были диагностированы сторонним патологом как В-ПИП+. В таблице 11 приводится анализ чувствительности для этих 77 случаев В-ПИП+.

Таблица 11 Повторное испытание: сравнение всех результатов лабораторий для препаратов, которые независимым исследованием были диагностированы как В-ПИП+
Анализ несовпадения (диагноз Н-ПИП в данном исследовании считался ошибкой)

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		Успех	Ошибка	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	Успех	25	21	46
	Ошибка	21	10	31
		46	31	77

Успех = (В-ПИП+)
Ошибка = ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП
Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Количество ошибок для традиционного метода: 21
Количество ошибок для метода SurePath®: 21

Анализ несовпадений, показанный в таблице 11, показал одинаковое число ошибок диагноза В-ПИП+ для обоих методов приготовления препаратов. Ошибки включают в себя ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ и Н-ПИП. Статистический тест показал эквивалентность методов при испытании методом разделенной пробы, даже когда диагноз Н-ПИП считается ошибкой, если он поставлен образцу, для которого эталонным заключением диагностирован В-ПИП+.

В таблице 12 содержится сводка описательных диагнозов доброкачественных изменений для всех лабораторий.

Таблица 12Первое комбинированное исследование: сводка доброкачественных клеточных изменений

Описание диагноза (кол-во пациентов: 8 807)	Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Доброкачественные изменения клеток				
*Инфекция:				
Виды <i>Candida</i>	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Герпес	8	0,1	6	0,1
Гарднерелла	85	1,0	44	0,5
Виды <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Другие бактерии	52	0,6	191	2,2
**Реактивно-репаративные изменения	424	4,8	319	3,6

* Для категории «Инфекция» в вышеприведенной таблице приводится тип обнаруженных возбудителей заболевания. Иногда наблюдалось несколько различных классов организмов.

** Реактивные и репаративные изменения включают в себя реактивные изменения, связанные с воспалением, атрофическим вагинитом, воздействием радиации, использованием внутриматочных спиралей, а также типичных репаративных изменений, затрагивающих плоские эпителиальные, плоские метапластические или столбчатые эпителиальные клетки.

В целом 8 807 случаев не получили неудовлетворительных заключений ни в лабораториях, где проводилось испытание, ни у сторонних экспертов. Еще у 239 образцов один или оба препарата были оценены как неудовлетворительные в одной или обеих лабораториях или у сторонних экспертов. Из 239 неудовлетворительных образцов 151 были препаратами, приготовленными традиционным методом; 70 — только SurePath®, и 18 — одновременно на препаратах, приготовленных традиционным методом, и препаратах SurePath®. Все неудовлетворительные образцы были исключены из диагностического сравнения по классификации Бетесда, но были добавлены вновь для сравнения качества приготовленных препаратов.

Таблицы 13–16 содержат данные о достоверности образцов для всех лабораторий.

Таблица 13Первое комбинированное исследование: результаты оценки достоверности препаратов

Качество препаратов (кол-во пациентов: 9 046)	Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Удовлетворительное	7607	84,1	6468	71,5
Удовлетворительное, со следующими ограничениями:	1385	15,3	2489	27,5
Отсутствует эндоцервикальный компонент	1283	14,2	1118	12,4
Воздушные артефакты	0	0	17	0,2
Слишком толстый мазок	1	<0,1	0	0
Кровь препятствует видимости	53	0,6	121	1,3
Воспаление препятствует видимости	102	1,1	310	3,4
Мало плоских эпителиальных клеток	4	<0,1	7	0,1
Цитолиз	10	0,1	11	0,1
Отсутствует клиническая история	0	0	0	0
Не указано	60	0,7	1018	11,3
Неудовлетворительны для целей исследования:	54	0,6	89	1,0
Отсутствует эндоцервикальный компонент	42	0,5	42	0,5
Воздушные артефакты	0	0	0	0
Слишком толстый мазок	0	0	2	<0,1
Кровь препятствует видимости	7	0,1	6	0,1
Воспаление препятствует видимости	6	0,1	6	0,1

Мало плоских эпителиальных клеток	6	0,1	0	0
Цитолиз	0	0	1	<0,1
Отсутствует клиническая история	0	0	0	0
Не указано	37	0,4	32	0,5

Примечание. Некоторые пациенты попадали в несколько подкатегорий.

Еще некоторое количество неудовлетворительных образцов было обнаружено сторонним патологом. Общее число неудовлетворительных образцов отражено в таблице 15. Условные обозначения таблицы: У — удовлетворительное, УУ — условно удовлетворительное (с указанием причины), Н — неудовлетворительное.

Таблица 14Первое комбинированное исследование: сводка достоверности препаратов по всем клиническим лабораториям, где велись испытания

Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом			
		У	УУ	Н	
	У	5868	1693	46	7607
	УУ	579	772	34	1385
	Н	21	24	9	54
		6468	2489	89	9046

Н: Результат теста Макнемара: χ^2 mc = 9,33, p = 0,0023
УУ: Результат теста Макнемара: χ^2 mc = 546,21, p = 0,0000

В таблице 14 содержится сравнение достоверности препаратов, приготовленных двумя методами. Следует заметить, что среди препаратов SurePath® значительно меньше препаратов неудовлетворительного качества и УУ по сравнению с препаратами, приготовленными традиционным способом.

Таблица 15Первое комбинированное исследование: сравнение количества неудовлетворительных оценок в лабораториях, где проводилось испытание, и у сторонних экспертов

Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		У	Н	
	У	8807	151	8958
	Н	70	18	88
		8877	169	9046

Результат теста Макнемара: χ^2 mc = 29,69, p = 0,0000

Таблица 15 содержит сравнение количества неудовлетворительных и удовлетворительных оценок, полученных в обеих лабораториях, где проводилось испытание, и у сторонних экспертов. Микропрепараты SurePath® показывают статистически значимое снижение неудовлетворительных оценок по сравнению с микропрепаратами, приготовленными традиционным способом.

Таблица 16Результаты оценки качества препаратов по лабораториям — доля УУ для препаратов с отсутствующим эндоцервикальным компонентом (ЭЦК)

Лаборатория	Кол-во случаев	Кол-во препаратов SurePath® УУ, без ЭЦК (%)	Кол-во препаратов, приготовленных обычным методом — УУ, без ЭЦК (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1448	207 (14,3)	210 (14,5)
По всем лабораториям	9046	1283 (14,2)	1118 (12,4)

Обнаружение эндоцервикальных клеток (таблица 16) варьировалось в разных лабораториях, где проводилось испытание. В целом было обнаружено расхождение в 1,8 % по обнаружению эндоцервикальных клеток между методом SurePath® и мазком по Папаниколу, полученным традиционным методом, что согласуется с предыдущими исследованиями по комбинированному методу.^{16,17}

Препараты SurePath®, подготовленные по системе PrepStain®, демонстрируют одинаковые результаты с препаратами, полученными традиционным мазком по Папаниколу, при испытании комбинированным методом в различных популяциях пациентов и в условиях различных лабораторий. Кроме того, среди микропрепаратов SurePath® было значительно меньше препаратов неудовлетворительного качества и УУ по сравнению с препаратами мазков по Папаниколу, приготовленными традиционным способом. Следовательно, микропрепараты SurePath® могут применяться как замена микропрепаратов мазков по Папаниколу, приготовленных традиционным способом, для выявления атипичных клеток, предраковых состояний, рака шейки матки и всех прочих цитологических категорий по классификации Бетесда.

ОЦЕНКА ПРИГОТОВЛЕНИЯ МИКРОПРЕПАРАТОВ SUREPATH® С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА PREPMATE® И ВРУЧНУЮ

Компания TriPath Imaging провела проспективное многоцентровое клиническое испытание для оценки двух модификаций процедуры для приготовления микропрепаратов SurePath®, одобренной Федеральным управлением по лекарственным средствам США (FDA). Модификации процедуры для приготовления микропрепаратов SurePath® состояли в следующем.

- Добавление устройства PrepMate® (метод PrepMate®), автоматизирующего проводимые вручную начальные шаги лабораторного процесса PrepStain®. Устройство PrepMate® автоматически перемешивает пробу, удаляет ее из пробирки для забора мазка с жидким консервантом SurePath® и наносит образец слоем на плотный реагент системы PrepStain® в пробирке.
- Добавление ручного метода, в котором для приготовления суспензии клеток и окрашивания микропрепарата устройство PrepStain® не используется, а вместо этого лаборант вручную наносит клеточную суспензию на предметное стекло и вручную окрашивает препарат.

Испытание проводилось на 400 случаях и состояло в сравнении слепым методом двух альтернативных методов утвержденной в настоящее время процедуры приготовления микропрепаратов SurePath®. Сравнение проводилось на основании морфологических и качественных критериев, применяемых к препаратам, приготовленным двумя разными методами.

Основные цели испытания:

- оценить морфологические и качественные аспекты микропрепаратов SurePath®, приготовленных с помощью устройства PrepMate®, по сравнению с микропрепаратами, приготовленными в соответствии с ныне утвержденной процедурой по системе PrepStain® (далее именуется методом PrepStain®);
- оценить морфологические и качественные аспекты микропрепаратов SurePath®, приготовленных вручную, по сравнению со микропрепаратами, приготовленными методом PrepStain®.

Дополнительные цели испытания:

- установить, является ли количество совпадений между утвержденным методом PrepStain® и методом PrepMate® достаточно высоким, чтобы его нельзя было объяснить случайностью;
- установить, является ли количество совпадений между утвержденным методом PrepStain® и методом ручного приготовления достаточно высоким, чтобы его нельзя было объяснить случайностью;
- оценить по системе стандартов PrepStain® качество препаратов SurePath®, приготовленных методом PrepMate®;
- оценить по системе стандартов PrepStain® качество препаратов SurePath®, приготовленных ручным методом.

УСТРОЙСТВО PREPMATE®

PrepMate® является дополнительным устройством для системы PrepStain®, автоматизирующим две выполняемые вручную стадии процесса PrepStain® — перемешивание пробы и нанесение на предметное стекло. Устройство PrepMate® тщательно перемешивает пробу, аккуратно извлекает ее из пробирки для забора мазка с жидким консервантом SurePath® и наносит образец слоем на плотный реактив системы PrepStain® в пробирке. Штатив для образцов, предварительно заполненный пробирками с пробами, шприц-пипетками и пробирками для теста (содержащими плотный реактив) помещаются на лоток устройства. Штатив может содержать до 12 пробирок с пробами, пробирок для теста и шприц-пипеток, размещенных в 3 ряда по 4 в каждом. Пробирки для проб, пробирки для теста и шприц-пипетки являются одноразовыми. Их следует использовать только один раз, чтобы исключить загрязнение образцов.

РУЧНОЙ МЕТОД

При использовании ручного метода нанесение слоя клеточной суспензии на предметные стекла и окрашивание препарата производятся вручную. Сбор и обработка гинекологических образцов идентичны для обоих методов — ручного и утвержденной процедуры PrepStain® — до того момента, когда нужно использовать инструмент PrepStain®.

В методе PrepStain® сепарированный клеточный осадок помещается непосредственно в прибор PrepStain® для автоматической обработки с целью получения окрашенных препаратов SurePath®.

При работе ручным методом к сепарированному клеточному осадку добавляется деионизированная вода, после чего проба перемешивается встряхиванием для ресуспендирования и рандомизации. Проба переносится в осадочную камеру системы PrepStain®, помещенную на предметное стекло SurePath® PreCoat. После оседания образца на предметном стекле группа образцов окрашивается одновременно по Папаниколу.

УЧИТЫВАЕМОСТЬ МИКРОПРЕПАРАТА

В таблице 17 показана учитываемость микропрепаратов для клинических испытаний. Следует заметить, что набор испытания состоял из **трех препаратов на каждую пациентку**.

Таблица 17 Учитываемость микропрепаратов

	Кол-во случаев	Кол-во микро-препаратов
Всего участвовало в испытании	471	1413
Всего исключено из анализа	−68	−204
Неполная документация	−39	−117
Неправильно приготовленные препараты	−24	−72
Другие причины для исключения*	−5	−15
Всего включено в анализ	403	1 209

* Отсутствующие пробы, повторяющиеся номера пациентов и т. п.

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОВОКУПНОСТИ ПАЦИЕНТОВ

В таблице 18 приводится демографическая информация для всех пациенток, включенных в исследуемую популяцию.

Таблица 18 Демографическая информация

Возраст	Кол-во случаев
19 лет или моложе	3
20–29	73
30–39	158
40–49	105
50 +	64
Всего	403

В таблице 19 приводится текущая клиническая информация, а в таблице 20 — истории болезни для всех пациенток, включенных в исследуемую популяцию. Следует заметить, что при опросе можно было отмечать несколько пунктов, поэтому общее количество случаев может не соответствовать общему количеству пациенток.

Таблица 19 Текущая клиническая информация

Клинические данные	Кол-во случаев
Регулярный менструальный цикл	241
Нерегулярный цикл	69
Гистерэктомия	16
Беременность	9
После аборта	0
После родов	9
После менопаузы	58
Менопауза	1
Иммунодепрессия	0
Патологическое представление в приложении GYN	0
Выделения из влагалища	137
Заместительная терапия эстрогенами	19
Внутриматочная спираль	2
Оральные контрацептивы/имплантат	20
Не пользуется средствами контроля рождаемости	181
Нет информации	22

Таблица 20Клиническая история

Анамнез	Кол-во случаев
Ранее была аномальная цитология	13
В анамнезе аномальные кровотечения	36
Биопсия	3
В анамнезе рак	1
Химиотерапия	0
Лучевая терапия	0
Кольпоскопия	9
ВИЧ/СПИД	0
Папилломавирус (HPV)	0
Герпес	1
В анамнезе ДПМТ*	1
В анамнезе ВЗТО**	57
Не зафиксировано	363

* Двусторонняя перевязка маточных труб
** Воспалительные заболевания тазовых органов

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЯ

Цель настоящего исследования — установить, имеют ли микропрепараты SurePath®, приготовленные с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, преимущество по сравнению с микропрепаратами, приготовленными в соответствии с ныне утвержденным методом PrepStain®. Клинические данные показывают, что микропрепараты SurePath®, приготовленные с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, по морфологии и качеству сравнимы с микропрепаратами, приготовленными в соответствии с ныне утвержденным методом PrepStain®.

Клинические данные также показывают, что качество диагностики с использованием препаратов, приготовленных методом PrepMate® и ручным методом, такое же, как при использовании утвержденного метода PrepStain®. Кроме того, по достоверности микропрепараты, приготовленные с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, не отличаются от микропрепаратов, приготовленных в соответствии с ныне утвержденным методом PrepStain®. Эти результаты свидетельствуют, что метод PrepMate® и ручной метод сравнимы с утвержденным методом PrepStain®.

МОРФОЛОГИЯ И КАЧЕСТВО ОБРАЗЦА

В таблице 21 показаны результаты для основных целей. Качество микропрепаратов, приготовленных каждым методом, оценивалось в соответствии с критериями морфологии и качества, показанными в таблице. Для каждого критерия вычислялся процент удовлетворяющих ему микропрепаратов, а также соответствующий точный доверительный интервал 95 %.

Таблица 21Сравнение долей и доверительных интервалов (ДИ) для критериев качества

Метод изготовления микропрепарата							
критерий качества	PrepStain®		PrepMate®		Ручной метод		
	Доля в общем числе	Точный доверительный интервал (ДИ) 95 %	Доля в общем числе	Точный доверительный интервал (ДИ) 95 %	Доля в общем числе	Точный доверительный интервал (ДИ) 95 %	
	Окрашивание	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Прозрачность	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Наличие ядра	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Цитология	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Скопления клеток	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Целлюлярность	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Доля качественных образцов в общем числе образцов для метода PrepMate® и ручного метода почти всегда равна доле качественных образцов для метода PrepStain® или превышает ее. Кроме того, точные доверительные интервалы 95 % для препаратов, приготовленных с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, существенно перекрываются с доверительными интервалами 95 % для препаратов, приготовленных в соответствии с ныне утвержденным методом PrepStain®, по каждому критерию. Это означает, что препараты SurePath®, приготовленные с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, по морфологии и качеству сравнимы с препаратами, приготовленными в соответствии с

ныне утвержденным методом PrepStain®. Следовательно, качество приготовления образцов для двух испытываемых методов такое же, как и в утвержденном методе.

СОГЛАСОВАННОСТЬ ДИАГНОЗОВ

В ходе данного анализа сравниваются диагнозы по препаратам, приготовленным каждым из методов. Поскольку все эти данные получены комбинированным методом, матрицы диагнозов, представленные в таблицах 22 и 23, основаны на парных образцах, приготовленных каждым из методов (PrepMate® и ручным методом), которые сравниваются с образцами, приготовленными утвержденным методом PrepStain®. В идеале диагнозы по препаратам, полученным двумя методами, должны совпасть. Этой ситуации соответствует число микропрепаратов с идентичными диагнозами, которое показано на главной диагонали каждой таблицы.

Первым критерием согласованности служит доля микропрепаратов на главной диагонали и соответствующий точный доверительный интервал 95 %. Вторым показателем согласованности служит каппа-статистика, вычисленная для каждого сравнения и проверенная. Этот тест определяет, является ли количество совпадений между двумя методами достаточно высоким, чтобы его нельзя было объяснить случайностью. Поскольку наблюдения упорядочены, важнее наличие наблюдений, лежащих на главной диагонали или рядом с ней. Взвешенная каппа-статистика приписывает больший вес наблюдениям, лежащим на главной диагонали таблицы или недалеко от нее.

СРАВНЕНИЕ УТВЕРЖДЕННОГО МЕТОДА PREPSTAIN® С МЕТОДОМ PREPMATE®

В таблице 22 количество микропрепаратов на главной диагонали равно 367 (2+334+8+6+5+11+1), а доля микропрепаратов на главной диагонали равна 0,9107 (367/403); границы точного доверительного интервала 95 % — от 0,8785 до 0,9366.

Если убрать из таблицы микропрепараты неудовлетворительного качества, исключив первую строку и первый столбец, останется 397 микропрепаратов. Доля микропрепаратов на главной диагонали равна 0,9194 (365/397); границы точного доверительного интервала 95 % — от 0,8881 до 0,9442.

Результаты, показанные в таблице 22, свидетельствуют, что утвержденный метод PrepStain® и метод PrepMate® дают высокий процент микропрепаратов с согласованными диагнозами, как указывает доля микропрепаратов, располагающихся на главной диагонали таблицы. Далее, взвешенная каппа-статистика показывает, что согласованность существенно больше значения, которое можно было бы объяснить случайностью.

Таблица 22 Сводная таблица диагнозов, полученных методами PrepStain® и PrepMate®

Диагноз, полученный методом PrepStain®										
	Н	ВПН	Добро кач. клеточные измен. — реактивно-репаративные	Атипия	Н-ПИП	В-ПИП	дисплазия	Аденокарцинома in situ	СА	Всего
Н	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
ВПН	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
Доброкач. клеточные измен. — реактивно-репаративные	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
Атипия	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
Н-ПИП	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
В-ПИП	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
Дисплазия	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
Аденокарцинома in situ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
СА	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Всего	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

СРАВНЕНИЕ УТВЕРЖДЕННОГО МЕТОДА PREPSTAIN® С РУЧНЫМ МЕТОДОМ

В таблице 23 количество микропрепаратов на главной диагонали равно 353 (3+315+6+10+7+11+1). Доля микропрепаратов на главной диагонали равна 0,8759 (353/403). Точные границы доверительного интервала 95 % биномиального распределения для этой пропорции — от 0,8397 до 0,9065.

Если убрать из таблицы микропрепараты неудовлетворительного качества, исключив первую строку и первый столбец, останется 398 микропрепаратов. Доля микропрепаратов на главной диагонали равна 0,8794 (350/398); границы точного доверительного интервала 95 % — от 0,8433 до 0,9097. Результаты, показанные в таблице 23, свидетельствуют, что утвержденный метод PrepStain® и ручной метод дают высокий процент микропрепаратов с согласованными диагнозами, как указывает доля микропрепаратов, располагающихся на главной диагонали таблицы. Далее, взвешенная каппа-статистика показывает, что согласованность существенно больше значения, которое можно было бы объяснить случайностью. Следовательно, качество диагностики у двух испытываемых методов и в утвержденном методе одинаково.

Таблица 23 Сводная таблица диагнозов, полученных методом PrepStain® и ручным методом

Диагноз, полученный методом PrepStain®										
	Н	ВПН	Добро кач. клеточные измен. — реактивно-репаративные	Атипия	Н-ПИП	В-ПИП	Дисплазия	Аденокарцинома in situ	СА	Всего
Н	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
ВПН	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
Доброкач. клеточные измен. — реактивно-репаративные	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
Атипия	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
Н-ПИП	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
В-ПИП	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
Дисплазия	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Аденокарцинома in situ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
СА	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Всего	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ДОСТОВЕРНОСТЬ МИКРОПРЕПАРАТОВ

Для каждого из методов приготовления микропрепаратов оценивалась их достоверность. Данные анализировались с помощью двустороннего теста Макнемара.¹⁸

В таблице 24 показаны результаты по достоверности препаратов, изготовленных утвержденным методом PrepStain® по сравнению с методом PrepMate®.

Таблица 24 Достоверность препаратов, полученных методами PrepStain® и PrepMate®

PrepStain®			
Результат метода			
Результат для метода PrepMate®	У или УУ	Н	401
	398	3	
	0	2	2
398		5	403

В таблице 25 показаны результаты по достоверности препаратов, изготовленных утвержденным методом PrepStain®, по сравнению с ручным методом.

Таблица 25 Достоверность препаратов, полученных методом PrepStain® и ручным методом

PrepStain®			
Результат метода			
Результат для ручного метода	У или УУ	Н	400
	398	2	
	0	3	3
398		5	403

Эти два сравнения демонстрируют, что по достоверности препараты, приготовленные с помощью устройства PrepMate®, а также ручным методом, не отличаются от препаратов, приготовленных в соответствии с ныне утвержденным методом PrepStain®.

ИСПЫТАНИЕ С ПЕРЕНОСОМ НЕПОСРЕДСТВЕННО В ПРОБИРКУ

После первоначального одобрения системы PrepStain® Федеральным управлением по лекарственным средствам США компания TriPath Imaging провела масштабное

многоцентровое клиническое испытание системы PrepStain® с переносом взятого мазка непосредственно в пробирку (в соответствии с установленными процедурами системы). В предыдущих клинических испытаниях применялся комбинированный метод, в котором взятый мазок сначала использовался для приготовления традиционным методом микропрепарата по Папаниколу, а затем оставшийся материал помещался в пробирку для сбора материала SurePath® и обрабатывался по системе PrepStain® для создания микропрепарата SurePath®. Хорошо известно, что испытания комбинированным методом показывают сниженную эффективность для тестов, приготовленных из остаточного клеточного материала.¹²

В данном испытании сравнивалось качество микропрепаратов SurePath®, полученных методом переноса непосредственно в пробирку, с мазками по Папаниколу, полученными традиционным способом. Результаты, полученные с помощью микропрепаратов SurePath®, сравнивались с результатами исторической когорты мазков по Папаниколу, полученных традиционным способом. В частности, при испытании проверялось, улучшается ли распознавание плоскоклеточного интраэпителиального поражения высокой степени (В-ПИП), аденокарциномы in-situ и рака (В-ПИП+). Для обеих популяций микропрепаратов были собраны все доступные данные по биопсии.

Совокупность микропрепаратов SurePath® насчитывала 58 580 препаратов, собранных проспективно из 57 клиник, почти на 100 % перешедших со сбора традиционных мазков по Папаниколу на сбор проб SurePath®. Образцы, собранные в этих клиниках, отправлялись на обработку в три лаборатории.

Совокупность микропрепаратов, изготовленных традиционным методом, состояла из 58 988 микропрепаратов из тех же клиник, откуда были получены микропрепараты SurePath®. Эта историческая популяция была собрана начиная с наиболее недавних микропрепаратов, предшествующих переходу клиник на систему SurePath®, и возвращаясь назад по времени к тому моменту, когда количество микропрепаратов SurePath® и микропрепаратов, приготовленных традиционным методом, было примерно одинаково.

Результаты исследования показали, что доля обнаружения для микропрепаратов SurePath® составляет 405/58 580 в сравнении с 248/58 988 для обычных микропрепаратов, что соответствует уровням выявления 0,691 % и 0,420 %, соответственно (см. таблицу 26). Для данных лабораторий и данных исследуемых популяций это означает, что использование микропрепаратов SurePath® позволяет повысить распознавание поражений В-ПИП+ на 64,4 % (p<0,00001).

Table 26 Сравнение уровней выявления по лабораториям В-ПИП+

Лаборатория	Традиционный			SurePath®		
	Всего	В-ПИП+	%	Всего	В-ПИП+	%
1	41 274	216	0,523	40 735	300	0,736
2	10 421	19	0,182	10 676	78	0,731
3	7 293	13	0,178	7 169	27	0,377
Всего	58 988	248	0,420	58 580	405	0,691

Н-ПИП+

Лаборатория	Традиционный			SurePath®		
	Всего	Н-ПИП+	%	Всего	Н-ПИП+	%
1	41 274	765	1,853	40 735	1501	3,685
2	10 421	96	0,921	10 676	347	3,250
3	7 293	99	1,357	7 169	127	1,772
Всего	58 988	960	1,627	58 580	1975	3,371

АПНЗ+

Лаборатория	Традиционный			SurePath®		
	Всего	АПНЗ+	%	Всего	АПНЗ+	%
1	41 274	1 439	3,486	40 735	2 612	6,412
2	10 421	347	3,330	10 676	689	6,454
3	7 293	276	3,784	7 169	285	3,975
Всего	58 988	2 062	3,496	58 580	3 586	6,122

Неудовлетворительные

Лаборатория	Традиционный			SurePath®		
	Всего	Н+	%	Всего	Н+	%
1	41 274	132	0,320	40 735	37	0,091
2	10 421	163	1,564	10 676	89	0,834
3	7 293	20	0,274	7 169	4	0,056
Всего	58 988	315	0,534	58 580	130	0,222

Примечание. Следует ожидать вариаций в качестве диагностики между лабораториями. Каждая лаборатория должна тщательно следить за качеством своей работы.

МЕТОДИКА

Методики приготовления микропрепаратов SurePath® приводятся полностью в «Руководстве по эксплуатации системы PrepStain®».

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

НАЗВАНИЕ И АДРЕС КОМПАНИИ

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA (800) 426-2176
TRIPATH-IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
Информация о системе PrepStain®: 1-800-426-2176 или 336-222-9707
Факс: 336-222-8819.
Номера патентов США: 5 356 814, 5 346 831, 5 419 279, 5 357 977.
Номера патентов в Канаде: 2 105 826, 2 106 343, 2 105 828.
Номера патентов в Японии: 2837076, 2781513.
Номера патентов в Европе: 0590504, 0590447, 0590506B.
Другие патенты в США и за рубежом находятся на рассмотрении.

MDCI Ltd  Авторизованный представитель
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL UK

PRZEZNACZENIE

System PrepStain® (dawniej system AutoCyte® PREP) służy do przygotowywania płynnych cienkowarstwowych preparatów komórek. System PrepStain® wytwarza szkiełka podstawowe SurePath®, które zastępują konwencjonalne rozmazy ginekologiczne. Szkiełka podstawowe SurePath® (dawniej szkiełka podstawowe AutoCyte® PREP) są przeznaczone do stosowania w badaniach przesiewowych i wykrywaniu raka szyjki macicy, stanów przedrakowych, komórek atypowych oraz wszystkich pozostałych kategorii cytologicznych określonych przez system Bethesda do zgłaszania rozpoznaw cytologicznych w obrębie szyjki macicy lub pochwy^{1,19}.

STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

System PrepStain® przekształca płynne zawiesiny komórek szyjki macicy do indywidualnie barwionych, jednorodnych cienkowarstwowych preparatów zachowujących diagnostyczne gniazda komórek²⁻⁹. Proces obejmuje konserwację komórek, randomizację, wzbogacanie materiału diagnostycznego, pipetowanie, sedymentację, barwienie oraz nakładanie szkiełka nakrywkowego w celu stworzenia szkiełka podstawowego SurePath® do stosowania w rutynowych cytologicznych badaniach przesiewowych oraz kategoryzacji określonej przez system Bethesda¹. Szkiełko podstawowe SurePath® reprezentuje dobrze zachowaną populację wybarwionych komórek w krążku o średnicy 13 mm. W większości wyeliminowane są artefakty wywołane suszeniem na powietrzu, zmatowieniem, nakładaniem się materiału komórkowego oraz zanieczyszczenia. Znacząco liczbą miano krwinek białych, co ułatwia wizualizację komórek nabłonka, komórek istotnych diagnostycznie oraz organizmów zakaźnych.

Obróbka SurePath® rozpoczyna się od pobrania próbki ginekologicznej przez wykwalifikowany personel medyczny przy użyciu przyrządów typu miotłki (np. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss — Holandia) lub przyrządów będących połączeniem wewnątrzszyjkowej szczoteczki/plastikowej szpatułki (np. Cytobrush® Plus GT i szpatułka Pap-Perfect®, MedScand (USA), Inc., Trumbull, CT) z odłączanymi główkami. Zamiast rozmiatywania pobranych komórek na szkiełku podstawowym, od przyrządów odłączane są główki, które umieszcza się we fiolce SurePath® z płynem konserwującym. Fiolka jest zamykana, opisywana i wraz z odpowiednią dokumentacją wysyłana do laboratorium w celu obróbki. Główki przyrządów do pobierania próbek nigdy nie są wyjmowane z fiolki z płynem konserwującym.

W laboratorium zakonserwowane próbki są mieszane na wytrząsarce, a następnie nanoszone na odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia PrepStain®. Podczas etapu wzbogacania obejmującego sedymentację w czasie wirowania przez odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia z próbki częściowo usuwane są zanieczyszczenia oraz nadmiar komórek zapalnych. Osad komórek po odwirowaniu jest resuspendowany, mieszany i przenoszony do komory osadzącej PrepStain® zamontowanej na szkiełku podstawowym SurePath® PreCoat. Komórki ulegają sedymentacji grawitacyjnej, następnie są barwione przy użyciu zmodyfikowanej procedury barwiącej Papanicolaou. Szkiełko podstawowe jest następnie przemywane ksylenem lub jego odpowiednikiem i przykrywane szkiełkiem nakrywkowym. Komórki obecne w krążku o średnicy 13 mm są badane pod mikroskopem przez przeszkolonych cytologów i patologów mających dostęp do odpowiednich informacji dodatkowych o pacjencie.

OGRANICZENIA

- Próbki ginekologiczne przeznaczone do przygotowywania przy użyciu systemu PrepStain® należy pobierać za pomocą przyrządu do pobierania typu miotłki lub wewnątrzszyjkowej szczoteczki/plastikowej szpatułki z odłączanymi główkami zgodnie z dostarczoną przez producenta standardową procedurą pobierania próbek. Z systemem PrepStain® nie należy stosować szpatulek drewnianych. Z systemem PrepStain® nie należy stosować połączeń szczoteczki/plastikowej szpatułki bez odłączanych główek.
- Wymogiem wstępnym uzyskiwania oraz oceny szkiełek nakrywkowych SurePath® jest szkolenie przez upoważniony personel. Cytolodzy oraz patolodzy zostaną przeszkoleni w zakresie oceny morfologii szkiełek podstawowych SurePath®. Szkolenie będzie obejmowało egzamin kompetencji. Klienci laboratoryjni otrzymają szkiełka podstawowe oraz zestawy testowe przeznaczone do celów szkoleniowych. Firma TriPath Imaging®, Inc. zapewni także pomoc w przygotowaniu szkoleniowych szkiełek podstawowych spośród populacji pacjentek klienta.
- W celu uzyskania prawidłowych wyników systemu PrepStain® należy stosować wyłącznie materiały dostarczane lub zalecane przez firmę TriPath Imaging do użyciu z systemem PrepStain®. Zużyte materiały należy poddać odpowiedniej utylizacji zgodnie z przepisami danej instytucji oraz kraju.
- Wszystkie materiały są przeznaczone do jednorazowego użytku i nie należy ich używać ponownie.

Odczynniki



Do celów diagnostyki *in vitro*. Wyłącznie do użytku laboratoryjnego.

Ostrzeżenia



Płyn konserwujący SurePath® zawiera wodny roztwór denaturowanego etanolu i nie jest przeznaczony do spożycia przez ludzi. Mieszanina zawiera niewielkie ilości metanolu oraz izopropanolu. Nie spożywać.



Odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia PrepStain® zawiera azcydek sodu. Nie spożywać. Azcydek sodu może reagować z ołowiem lub miedzią zawartymi w instalacjach wodociagowych, tworząc bardzo wybuchowe azcydki metali. Podczas utylizacji mieszaninę należy spłukać dużą objętością wody, aby zapobiec osadzeniu się azydku. Dodatkowe informacje znajdują się w publikacji DHHS (NIOSH, No. 78-127 Current 13) wydawanej przez Centers for Disease Control. Patrz witryna: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.

Mieszanina barwników cytologicznych EA/OG PrepStain® zawiera alkohol. Toksyczne w przypadku spożycia. Nie wdychać oparów. Stosować przy odpowiedniej wentylacji. Unikać kontaktu ze skórą i oczami. Bardzo łatwopalne.



ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Należy ściśle przestrzegać dobrej praktyki laboratoryjnej oraz wszystkich procedur użytkowania systemu PrepStain®.
- W celu uzyskania optymalnej wydajności odczynnik należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15 do 30°C) i używać przed upływem ich terminu ważności. Warunki przechowywania płynu konserwującego SurePath® bez próbek cytologicznych w temperaturze pokojowej (od 15 do 30°C) to 36 miesięcy od daty produkcji. Maksymalny czas przechowywania płynu konserwującego SurePath® z próbkami cytologicznymi w chłodni (od 2 do 10°C) wynosi 6 miesięcy, natomiast w temperaturze pokojowej (od 15 do 30°C) 4 tygodnie.
- Unikać chłapania oraz wytwarzania aerozoli. Operatorzy powinni stosować odpowiednie środki ochrony głowy, oczu oraz ubrania.
- Płyn konserwujący SurePath® został przetestowany pod kątem skuteczności przeciwdrobnoustrojowej wobec: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* oraz *Aspergillus niger* i stwierdzono jego skuteczność. Próbkę płynu konserwującego SurePath® inokulowane 10⁶ CFU/ml każdego ze szczepów po 14 dniach (28 w przypadku *Mycobacterium tuberculosis*) nie wykazywały wzrostu komórek w warunkach standardowych. Jednak przez cały czas należy stosować powszechne środki ostrożności dotyczące bezpiecznej pracy z płynami biologicznymi.
- Nieprzestrzeganie procedur wyszczególnionych w podręczniku operatora systemu PrepStain® może spowodować pogorszenie wydajności.

WYMAGANE MATERIAŁY

Wyczerpujące informacje na temat odczynników, elementów i wyposażenia dodatkowego znajdują się w podręczniku operatora systemu PrepStain®. Nie wszystkie spośród wymienionych materiałów są wymagane do przygotowywania preparatów szkiełek podstawowych PrepStain® metodą manualną (bez użycia aparatu PrepStain®).

Dostarczone materiały

- Aparat PrepStain
- Fiolka z płynem konserwującym SurePath (zawiera płyn konserwujący SurePath)
- Przyrząd(y) z odłączaną główką do pobierania próbek z szyjki macicy
- Odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia PrepStain®
- Pipeta strzykawkowa PrepStain®
- Komory osadzące PREPSTAIN®
- Zestaw do barwienia cytologicznego
- Szkiełka podstawowe SurePath® PreCoat
- Probówki do wirowania
- Statywy szkiełek podstawowych oraz probówek
- Jednorazowe końcówki do przenoszenia oraz do aspiratora

Materiały wymagane, ale niedostarczane

- Wytrząsarka
- Woda dejonizowana (pH 7,5 do 8,5)
- Izopropanol oraz alkohol o czystości do analiz
- Środek czyszczący, środek do zatapiania oraz szklane szkiełka nakrywkowe

Przechowywanie

Warunki przechowywania płynu konserwującego SurePath® bez próbek cytologicznych w temperaturze pokojowej (od 15 do 30°C) to 36 miesięcy od daty produkcji.

Płyn konserwujący SurePath® z próbkami cytologicznymi można przechowywać w chłodni (od 2 do 10°C) przez 6 miesięcy, natomiast w temperaturze pokojowej (od 15 do 30°C) przez okres do 4 tygodni.

INTERPRETACJA DIAGNOSTYCZNA ORAZ WIARYGODNOŚCI PREPARATU

Po odbyciu przez użytkownika autoryzowanego przez firmę TriPath Imaging szkolenia z zakresu pracy z systemem PrepStain® oraz szkiełkami podstawowymi SurePath®, kryteria diagnozy cytologicznej systemu Bethesda obecnie stosowane wobec konwencjonalnych rozmazów mają także zastosowanie wobec szkiełek podstawowych SurePath®¹. Nowe wytyczne zalecane w systemie raportowania Bethesda z roku 2001 dotyczą preparatów płynnych oraz określają, w jaki sposób określić wiarygodność komórkowości (liczby komórek w danym miejscu) specyficznie dla tych preparatów.

Przy braku komórek nieprawidłowych preparat jest uważany za niezadowolający, gdy spełnione jest jedno z następujących kryteriów:

- (1) Nieodpowiednia liczba komórek diagnostycznych (poniżej 5000 zluszczonych komórek nabłonka na preparat). Poniżej opisano zalecane procedury szacowania na szkiełkach podstawowych SurePath® liczby dobrze zachowanych zluszczonych komórek nabłonka:

- W przypadku każdego modelu mikroskopu stosowanego w badaniach przesiewowych należy sprawdzić instrukcję obsługi lub skontaktować się z producentem w celu ustalenia powierzchni pola widzenia przy użyciu preferowanego okularu oraz obiektywu 40x. Alternatywnie obszar pola widzenia można obliczyć przy użyciu hemocytometru lub innej skali pomiarowej do mikroskopowych szkiełek podstawowych (powierzchnia pola widzenia = πr^2 , gdzie r to promień pola widzenia).
- Minimalna średnia liczba komórek dla pola widzenia obiektywu 40x powinna zostać określona poprzez podzielenie przybliżonego obszaru osadzania komórek na szkiełku podstawowym SurePath® (130 mm²) przez powierzchnię pola widzenia danego mikroskopu. Uzyskaną liczbę należy następnie podzielić przez minimum 5000 komórek. Uzyskana liczba to zalecana minimalna średnia liczba wiarygodnych komórek nabłonka w polu widzenia obiektywu 40x. Liczbę tę należy zapisać i zachować jako rutynowy wzorzec używany przez cytologów. Wytyczne Bethesda 2001 wskazują przybliżoną liczbę komórek w polu widzenia dla preparatu o średnicy 13 mm.

- W środku preparatu należy policzyć co najmniej dziesięć pól w pionie lub w poziomie.
- Do oceny wiarygodności cykli wytwarzania preparatów można użyć praktycznej oceny komórkowości poprzez makroskopową ocenę wizualnej gęstości wybarwionego preparatu. Podczas badań przesiewowych nie można jednak zastąpić podstawowej oceny mikroskopowej przez cytologa.

(2) Ponad 75% elementów komórkowych jest zaciemnionych przez zapalenia, krew, bakterie, śluz lub artefakty wykluczające cytologiczną interpretację szkiełka podstawowego.

Wszelkie nieprawidłowe lub kwestionowane wyniki badania przesiewowego należy przekazać do oceny i diagnozy patologa. Patolog powinien zanotować wszelkie istotne diagnostycznie zmiany morfologiczne komórek.

CHARAKTERYSTYKA WYKONANIA: RAPORT Z BADAŃ KLINICZNYCH

PIERWSZE BADANIE METODĄ DZIELENIA PRÓBKÍ

Firma TriPath Imaging przeprowadziła wieloosrodkowe, prospektywne, maskowane badanie kliniczne z dzieleniem i parowaniem próbek, które porównywało wyniki diagnostyczne szkiełek podstawowych SurePath® uzyskanych przy użyciu systemu PrepStain® z rozmazami Pap przygotowywanymi konwencjonalnie. Celem badania była ocena skuteczności SurePath® w wykrywaniu raka szyjki macicy, stanów przedrakowych i atypowych komórek w różnych populacjach pacjentek i różnych warunkach laboratoryjnych w porównaniu z konwencjonalnymi rozmazami. Ponadto w przypadku obu rodzajów preparatów oceniano wiarygodność.

Stosując się do zaleceń FDA zawartych w dokumencie „Points to Consider” (Punkty do rozważenia) dotyczącym przyrządów do cytologii komórek szyjki macicy,¹⁰ najpierw przygotowywano konwencjonalny rozmaz, a następnie pozostałą część próbki z przyrządu do pobierania próbek typu miotelić umieszczano we fiolce z płynem konserwującym SurePath®.

Po przetransportowaniu do laboratorium każda zakonserwowana zawieszina komórek była poddawana obróbce zgodnie z protokołem systemu PrepStain®. Uzyskane szkiełko podstawowe SurePath® oraz odpowiadający mu konwencjonalny rozmaz były poddawane manualnemu badaniu przesiewowemu i niezależnie diagnozowane przy użyciu kategorii diagnostycznych spójnych z systemem Bethesda. W każdym ośrodku wszystkie nieprawidłowe szkiełka podstawowe oceniał patolog.

Zgodnie z metodą opisaną przez Shatzkina,¹¹ w wyznaczonym ośrodku odniesienia niezależny patolog w zamaskowany sposób przeglądał wszystkie przypadki nieprawidłowe, rozbieżne oraz poprawy i 5% prawidłowych przypadków ze wszystkich ośrodków, aby w każdym przypadku postawić właściwe rozpoznanie.

CHARAKTERYSTYKA PACJENTEK

Wiek kobiet uczestniczących w badaniu zawierał się w granicach 16-87 lat, w tym 772 kobiety były w wieku pomenopauzalnym. Spośród 8807 pacjentek biorących udział w badaniu 1059 miało w wywiadzie wcześniejszy nieprawidłowy wynik rozmazu. Populacja pacjentek biorących udział w badaniu obejmowała następujące grupy etniczne: biała (44%), czarna (30%), azjatycka (12%), latynoska (10%), indiańska (3%) i inne (1%).

Wyłączone były pacjentki z nieprawidłową dokumentacją, poniżej 16 roku życia, pacjentki po histerektomii i z próbkami niedostatecznymi oraz niewiarygodnymi. Podjęto wysiłek objęcia badaniem możliwie wielu przypadków raka szyjki macicy i chorób przedrakowych poprzez dotarcie do pacjentek z grupy wysokiego ryzyka, nieregularnie badanych oraz ze skierowaniem.

W ośmiu ośrodkach badania zaakceptowano i zbadano 9046 pacjentek spośród 10335 ogółu przypadków. Spośród 9046 pacjentek 8807 spełniało kryteria wiarygodności preparatu w systemie Bethesda i było dostępnych do pełnej diagnostyki obu rodzajów preparatów.

WYNIKI BADANIA

Celem badania klinicznego było porównanie skuteczności szkiełek podstawowych SurePath® wykonanych przez system PrepStain® z przygotowywanymi konwencjonalnie rozmazami. Szkiełka podstawowe obu rodzajów preparatów klasyfikowano według kryteriów systemu Bethesda. Protokół badania był ukierunkowany na korzyść konwencjonalnego rozmazu, ponieważ był on zawsze przygotowywany jako pierwszy, wskutek czego ograniczał szkiełka SurePath® do resztkowego materiału pozostającego na przyrządzie typu miotelić (części próbki, która normalnie byłaby odrzucana).¹² Docelowo test SurePath® będzie pobierany bezpośrednio do fiolki, wykorzystując w systemie PrepStain® wszystkie dostępne komórki.

W celu porównania czułości SurePath® i konwencjonalnego rozmazu Pap przy manualnym odczytywaniu szkiełek poziom nieprawidłowości był określany przez referencyjnego patologa i porównywany z rozpoznaniem postawionym przez ośrodek badania. Rozpoznanie odniesienia opierało się na wykonywanej przez niezależnego patologa referencyjnego najbardziej nieprawidłowej diagnozie któregośkolwiek z preparatów. Wynik ten był stosowany jako prawda diagnostyczna lub wartość odniesienia do porównania wyników ośrodka stosującego system przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath® w systemie PrepStain® z konwencjonalnymi rozmazami. Hipotezę zerową mówiącą, że czułość obu metod przygotowywania szkiełek podstawowych jest równa, testowano przy użyciu testu chi kwadrat McNemara dla danych sparowanych.¹³ W tym teście statystycznym porównywano rozbieżne wyniki obu metod preparatyki.

Tabela 1 przedstawia bezpośrednie porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach stosujących szkiełka podstawowe SurePath® z metodą konwencjonalną w takich kategoriach diagnostycznych jak w granicach normy (Within Normal Limits — WNL), atypowe komórki zhuszczone o nieokreślonym znaczeniu/atypowe komórki gruczołowe o nieokreślonym znaczeniu (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance — ASCUS/AGUS), zmiany małego stopnia w obrębie nabłonka płaskiego szyjki macicy (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion — LSIL), zmiany dużego stopnia w obrębie nabłonka płaskiego szyjki macicy (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion — HSIL) oraz rak (Cancer — CA).

Tabela 1 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: 8807 dopasowanych próbek — porównanie wyników ośrodków — bez patologa referencyjnego

Wyniki według ośrodka								
Nr ośrodka	Rodzaj preparatu	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Ogółem
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1514	47	4	81	24	0	1670
	CN	1560	33	6	40	31	0	1670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1302	60	2	19	5	0	1388
	CN	1326	37	2	19	4	0	1388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1272	179	6	83	35	1	1576
	CN	1258	209	9	68	30	2	1576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1227	61	3	86	44	2	1423
	CN	1209	57	0	94	61	2	1423
Ogółem	SP	7759	509	36	342	135	26	8807
	CN	7768	531	39	271	177	21	8807

SP = SurePath®

CN = Konwencjonalne

Tabela 2 przedstawia bezpośrednie porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach w przypadku metody preparatyki SurePath® z przygotowywaniem konwencjonalnych rozmazów dla wszystkich kategorii leczenia.

Tabela 2 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: 8,807 dopasowanych próbek — porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach — bez patologa referencyjnego

Konwencjonalne rozmazy								
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Ogółem
	WNL	7290	361	20	63	24	1	7759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Ogółem	7768	531	39	271	177	21	8807

Tabele 1 i 2 nie odzwierciedlają wyników uzyskanych przez patologa referencyjnego.

Tabela 3 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników wszystkich ośrodków dla przypadków oznaczonych metodą referencyjną jako ASCUS/AGUS — analiza błędów niezgodności

Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną				
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	Sukces		Błąd
		113	205	
	Błąd	180	229	
		293	434	727

Sukces = ASCUS/AGUS

Błąd = WNL oraz wynik odczynowy/odtwórca

Wynik testu McNemara: $\chi^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$

Błędy konwencjonalne: 205

Błędy SurePath®: 180

Tabela 3 przedstawia wyniki dla przypadków zidentyfikowanych przez patologa referencyjnego jako ASCUS lub AGUS. Niniejsza ocena umożliwia analizę błędów niezgodności w celu oceny czułości metod w przypadku badania z dzieleniem próbek. Błędy obejmują WNL oraz wynik odczynowy/odtwórca. Ponieważ wartość p określona testem McNemara przekroczyła 0,05, wyniki SurePath® oraz konwencjonalnych rozmazów były równoważne.

Tabela 4 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników wszystkich ośrodków dla przypadków oznaczonych metodą referencyjną jako LSIL — analiza błędów niezgodności

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	140	63
	Błąd	54	86
		194	149
			343

Sukces = LSIL

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca oraz ASCUS/AGUS

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$

Błędy konwencjonalne: 63

Błędy SurePath®: 54

Tabela 4 przedstawia wyniki przypadków zidentyfikowanych przez patologa referencyjnego jako LSIL. Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórca oraz ASCUS/AGUS. Podobnie jak w przypadku ASCUS/AGUS, czułość obu metod w badaniu z dzieleniem próbki była statystycznie równoważna przy wartości p przekraczającej 0,05.

Tabela 5 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników wszystkich ośrodków uzyskanych w przypadkach oznaczonych metodą referencyjną jako HSIL+. Analiza błędów niezgodności (LSIL nie jest błędem)

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	160	28
	Błąd	36	38
		196	66
			262

Sukces = HSIL+

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca oraz ASCUS/AGUS

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$

Błędy konwencjonalne: 28

Błędy SurePath®: 36

Tabela 5 przedstawia wyniki przypadków zidentyfikowanych przez patologa referencyjnego jako HSIL+. W tym porównaniu LSIL nie był uważany za błąd, ale raczej za rozbieżność.^{10,14,15} Błąd obejmował WNL, wynik odczynowy/odtwórca oraz ASCUS/AGUS. Analiza czułości błędów niezgodności wykazała statystyczną równoważność obu metod w badaniu z dzieleniem próbki.

Tabela 6 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Analiza niezgodności dla przypadków raka (HSIL nie jest błędem; LSIL jest uważany za błąd)

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	19	2
	Błąd	5	1
		24	3
			27

Sukces = Rak

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS i LSIL

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$

Błędy konwencjonalne: 2

Błędy SurePath®: 5

Tabela 6 przedstawia wyniki (wszystkich ośrodków) uzyskane w przypadkach ocenionych metodą referencyjną jako rak. Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL. Analiza czułości błędów niezgodności wykazała statystyczną równoważność obu metod. W badaniu ponownym uwzględniono 27 przypadków raka. Dane te znajdują się w tabeli 9.

Tabela 7 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników wszystkich ośrodków uzyskanych w przypadkach oznaczonych metodą referencyjną jako HSIL+. Analiza błędów niezgodności (w tej analizie LSIL uważano za błąd).

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	94	33
	Błąd	67	68
		161	101
			262

Sukces = (HSIL+)

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$

Błędy konwencjonalne: 33

Błędy SurePath®: 67

Tabela 7 przedstawia przypadki zidentyfikowane przez patologa referencyjnego jako HSIL+. Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL.

Mimo braku spójności z protokołem pierwotnego badania¹⁰ przeprowadzono statystyczne porównanie metod, w którym LSIL uznano za błąd diagnostyczny wobec przypadków określonych przez jednego niezależnego patologa referencyjnego jako HSIL+. W tym statystycznym porównaniu czułości diagnostycznej, gdzie LSIL uważano za błąd w przeciwieństwie do małej rozbieżności, w przypadku wykrywania nieprawidłowości HSIL+ w metodzie dzielenia próbki szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane przez system PrepStain® nie byłyby równoważne konwencjonalnym rozmazom.

ZAMASKOWANA PONOWNĄ OCENĄ PRZYPADKÓW HSIL+

Przeprowadzono nową ocenę mającą na celu sprawdzenie, czy na wyniki wpływa jakość preparatyki oraz subiektywność interpretacji. W celu oceny 262 przypadków zdiagnozowanych podczas pierwotnego badania jako HSIL+ (tabela 7) po wdrożeniu nowego programu szkolenia cytologów przeprowadzono dodatkowe badanie kładące nacisk na spójną interpretację grup diagnostycznych systemu Bethesda. Przypadki HSIL+ ponownie zamaskowano w ramach ponownej oceny 2438 próbek przygotowanych przy użyciu tej samej metody dzielenia próbki. Następnie wyniki badań ośrodków dla dwóch preparatów porównano z nową wartością referencyjną, która wymagała uznania przez co najmniej dwóch z trzech patologów referencyjnych za najbardziej nieprawidłową diagnozę cytologiczną.

Podczas procesu ponownej oceny referencyjnej oba preparaty przypadków niezgodności (szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane w systemie PrepStain® oraz konwencjonalne) były ponownie badane przez drugiego cytologa, a nowe nieprawidłowości dodawano do zidentyfikowanych podczas badania pierwotnego. Następnie przypadki niezgodności były oceniane przez trzech cytopatologów referencyjnych przy użyciu protokołu zaślepienia. Taka surowsza metoda referencyjna zmniejszyła liczbę referencyjnych przypadków HSIL+ z 269 w badaniu pierwotnym do 209 w badaniu powtórzonym. 53 przypadki rozbieżności można wyjaśnić następująco:

48 przypadków zdiagnozowano przy użyciu surowszej metody referencyjnej jako LSIL lub mniej poważne, wiarygodność 3 po ponownej ocenie uznano jako niezadowolającą, a pozostałe 2 przypadki nie były dostępne do oceny w drugim badaniu zamaskowanym.

Tabela 8 Badanie powtórzone: Analiza błędów rozbieżności 209 pierwotnych przypadków HSIL+ ocenionych ponownie przy użyciu surowszych kryteriów referencyjnych obejmujących analizę przez trzech niezależnych patologów referencyjnych

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	153	26
	Błąd	24	6
		177	32
			209

Sukces = HSIL+

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$

Błędy konwencjonalne: 26

Błędy SurePath®: 24

Tabela 8 przedstawia wyniki dla przypadków zidentyfikowanych przez patologa referencyjnego jako HSIL+. Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL. W porównaniu tym LSIL był uważany za błąd diagnostyczny wobec przypadków uznanych przez niezależnego patologa referencyjnego za HSIL+. Porównanie czułości diagnostycznej wykazało statystyczną równoważność obu metod.

Tabela 9 Badanie powtórzone: Analiza niezgodności dla przypadków raka (HSIL nie jest błędem; LSIL jest uważany za błąd)

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	32	3
	Błąd	3	0
		35	3
			38

Sukces = Rak

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Błędy konwencjonalne: 3

Błędy SurePath®: 3

Tabela 9 przedstawia wyniki przypadków ocenionych metodą referencyjną jako rak (wszystkie ośrodki). Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórca, ASCUS/AGUS oraz LSIL. Jeden błąd wynikał z interpretacji LSIL. Wszystkie pozostałe błędy obejmowały interpretację szkiełek podstawowych jako ASCUS/AGUS lub WNL. Analiza czułości błędów niezgodności wykazała statystyczną równoważność obu metod.

Zamaskowane badanie powtórzone obejmowało 2097 nowych przypadków użytych do ponownego zamaskowania pierwotnych próbek HSIL+. Analiza oraz porównanie preparatów nowych przypadków zostały przedstawione w tabeli 10.

Tabela 10 Badanie powtórzone: Porównanie 2097 wyników przeprowadzone bezpośrednio w ośrodku — bez patologa referencyjnego

		Konwencjonalne rozmazy					
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA
Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	WNL	1561	128	0	47	30	0
	ASCUS	80	37	1	6	8	1
	AGUS	9	7	0	0	1	0
	LSIL	33	11	1	33	11	1
	HSIL	26	18	1	18	19	3
	CA	1	2	0	0	1	2
	Ogółem	1710	203	3	104	70	7

Spośród 2097 wymienionych powyżej przypadków 77 zostało zdiagnozowanych przez patologa referencyjnego jako HSIL+. Tabela 11 przedstawia analizę czułości tych 77 przypadków HSIL+.

Tabela 11 Badanie powtórzone: Porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach dla przypadków oznaczonych metodą referencyjną jako HSIL+. Analiza błędów niezgodności (w tej analizie LSIL uważano za błąd).

		Szkienka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		Sukces	Błąd
Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	25	21
	Błąd	21	10
		46	31

Sukces = HSIL+

Błąd = WNL, wynik odczynowy/odtwórczy, ASCUS/AGUS oraz LSIL

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

Błędy konwencjonalne: 21

Błędy SurePath®: 21

Analiza błędów niezgodności w tabeli 11 wykazała statystycznie równą liczbę pominięć HSIL+ w obu preparatach. Błędy obejmują WNL, wynik odczynowy/odtwórczy, ASCUS/AGUS oraz LSIL. Test statystyczny wykazał równoważność obu metod w badaniu dzielenia próbki, nawet gdy LSIL uznawano za błąd wobec referencyjnej wartości HSIL+.

Tabela 12 zawiera diagnozy opisowe wyników łagodnych dla wszystkich ośrodków.

Tabela 12 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Podsumowanie łagodnych zmian komórkowych

Diagnoza opisowa (liczba pacjentek: 8807)	Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®		Szkienka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
	N	%	N	%
Łagodne zmiany komórkowe				
*Zakażenie:				
Szczepki <i>Candida</i>	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Opryszczka	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Szczepki <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Bakterie (pozostałe)	52	0,6	191	2,2
**Zmiany odczynowo-odtwórcze	424	4,8	319	3,6

* W przypadku powyższej kategorii Zakażenie, zgłaszano obserwacje czynników zakaźnych. W danym przypadku może być obecna więcej niż jedna klasa organizmu.

** Odczynowe zmiany odtwórcze związane z zapaleniem, zanikowym zapaleniem pochwy, naświetlaniem, stosowaniem IUD (wkładek wewnątrzmacicznych), jak również typowa odnowa obejmująca nabłonek płaski, metaplastyczny nabłonek płaskiego lub komórki nabłonek walcowatego.

Ogółem 8807 przypadków nie zostało ocenionych jako „niezadowolające” zarówno przez ośrodki badania, jak i ośrodek referencyjny. Dodatkowe 239 próbek zostało w przypadku jednego lub obu preparatów ocenionych jako „niezadowolające” przez ośrodki badania lub ośrodek referencyjny bądź przez oba. Spośród 239 przypadków niezadowolających 151 zaobserwowano wyłącznie na konwencjonalnych szkiełkach podstawowych, 70 wyłącznie na szkiełkach podstawowych SurePath® a 18 w przypadku obu rodzajów preparatów. Wszystkie przypadki niezadowolające zostały wyłączone z diagnostycznego porównania w kategoriach systemu Bethesda, ale zostały użyte do porównania wiarygodności preparatów.

Tabele 13 do 16 przedstawiają wyniki wiarygodności preparatów we wszystkich ośrodkach.

Tabela 13 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Wyniki wiarygodności preparatu

Wiarygodność preparatu (Liczba pacjentek: 9046)	Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®		Szkienka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
	N	%	N	%
Zadowolające	7,607	84,1	6468	71,5
Zadowolające, ale ograniczone przez:	1385	15,3	2489	27,5
Brak elementu wewnątrzszłykowego	1283	14,2	1118	12,4
Artefakt wywołany suszeniem	0	0	17	0,2
Gęsty rozmaz	1	< 0,1	0	0
Przesłonięcie krwią	53	0,6	121	1,3
Przesłonięcie zapaleniem	102	1,1	310	3,4
Mało złuszczonej komórek nabłonka	4	< 0,1	7	0,1
Cytoliza	10	0,1	11	0,1
Brak wywiadu klinicznego	0	0	0	0
Nie określono	60	0,7	1018	11,3
Niezadowolające do oceny:	54	0,6	89	1,0
Brak elementu wewnątrzszłykowego	42	0,5	42	0,5
Artefakt wywołany suszeniem	0	0	0	0
Gęsty rozmaz	0	0	2	< 0,1
Przesłonięcie krwią	7	0,1	6	0,1
Przesłonięcie zapaleniem	6	0,1	6	0,1
Mało złuszczonej komórek nabłonka	6	0,1	0	0
Cytoliza	0	0	1	< 0,1
Brak wywiadu klinicznego	0	0	0	0
Nie określono	37	0,4	32	0,5

Uwaga: Niektóre pacjentki obejmowały więcej niż jedną podkategorię.

Dodatkowe przypadki niezadowolające zostały stwierdzone przez patologa referencyjnego i całkowita liczba wyników niezadowolających została przedstawiona w tabeli 15: SAT = zadowolające, SBLB = zadowolające, ale ograniczone przez (pewne określone warunki) oraz UNSAT = niezadowolające.

Tabela 14 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Podsumowanie wyników wiarygodności preparatów we wszystkich uczestniczących ośrodkach.

		Szkienka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną		
		SAT	SBLB	UNSAT
Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	SAT	5868	1693	46
	SBLB	579	772	34
	UNSAT	21	24	9
		6468	2489	89

UNSAT: Wynik testu McNemara $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$

SBLB: Wynik testu McNemara $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

Tabela 14 przedstawia wyniki porównania wiarygodności preparatów przygotowanych oboma metodami. W przypadku szkiełek podstawowych SurePath® było znacząco mniej przypadków niezadowolających oraz SBLB w porównaniu z metodą konwencjonalną.

Tabela 15 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników niezadowolających uzyskanych w ośrodkach uczestniczących w badaniu oraz ośrodku referencyjnym

		Szkienka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
		SAT	UNSAT
Szkienka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	SAT	8807	151
	UNSAT	70	18
		8877	169

Wynik testu McNemara $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

Tabela 15 przedstawia porównanie wyników zadowolających i niezadowolających uzyskanych w ośrodkach uczestniczących w badaniu oraz ośrodku referencyjnym W przypadku szkiełek podstawowych SurePath® było znacząco mniej przypadków niezadowolających w porównaniu z metodą konwencjonalną.

Tabela 16 Wyniki wiarygodności preparatu w zależności ośrodka — współczynnik SBLB dla braku elementu wewnątrzzyjkowego (Endocervical Component — ECC)

Ośrodek	Liczba przypadków	Szkiełka podstawowe SurePath® SBLB bez ECC N (%)	Szkiełka podstawowe konwencjonalne
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1448	207 (14,3)	210 (14,5)
Wszystkie ośrodki	9046	1283 (14,2)	1118 (12,4)

Wykrywanie komórek wewnątrzzyjkowych (tabela 16) było zróżnicowane w różnych ośrodkach badania. Ogółem pomiędzy rozmazami tradycyjnymi a metodą SurePath® występowała 1,8% różnica wykrywania komórek wewnątrzzyjkowych, co jest wynikiem zbliżonym do poprzednich badań obejmujących metodologię dzielenia próbki.^{16,17}

Podczas porównywania metodą dzielenia próbki szkiełka podstawowe SurePath® uzyskane przy użyciu systemu PrepStain® dawały podobne wyniki w przypadku różnych laboratoriów oraz populacji pacjentek. Ponadto w przypadku szkiełek podstawowych SurePath® w porównaniu z metodą konwencjonalną było znacząco mniej przypadków niezadowolających oraz SBLB. Dlatego też szkiełka podstawowe SurePath® mogą zastąpić konwencjonalne rozmazy w przypadku wykrywania komórek atypowych, stanów przedrakowych, raka szyjki macicy oraz wszystkich pozostałych kategorii cytologicznych określonych przez system Bethesda.

OCENA PREPARATÓW SUREPATH® PRZYGOTOWYWANYCH PRZY UŻYCIU METODY MANUALNEJ ORAZ PREPMATE®.

Firma TriPath Imaging przeprowadziła prospektywne wieloośrodkowe badanie kliniczne mające na celu ocenę dwóch modyfikacji zatwierdzonej przez FDA procedury przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath®. Modyfikacje zatwierdzonego procesu przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath® były następujące:

- Dodanie dodatkowego wyposażenia PrepMate® (metoda PrepMate®), które automatyzuje początkowe etapy manualnej obróbki laboratoryjnej PrepStain®. PrepMate® automatycznie miesza i przenosi próbkę z fiolek konserwujących SurePath® i nanosi do próbówki zawierającej odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia PrepStain®.
- Dodanie metody manualnej, w której zawieszanie komórek i barwienie szkiełka podstawowego wykonuje laborant, a nie aparat PrepStain®.

W badaniu, w którym wzięło udział 400 osób, było zamaskowanym porównaniem metod alternatywnych z aktualnie zatwierdzoną procedurą przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath®. Porównanie opierało się na kryteriach morfologicznych oraz jakościowych szkiełek podstawowych przygotowanych przy użyciu każdej z metod.

Głównymi celami badania były:

- Ocena morfologicznych oraz jakościowych aspektów szkiełek podstawowych SurePath® przygotowanych metodą PrepMate® w porównaniu do preparatów uzyskanych przy użyciu zatwierdzonej metody obejmującej system PrepStain® (określanej jako metoda PrepStain®).
- Ocena morfologicznych oraz jakościowych aspektów szkiełek podstawowych SurePath® przygotowanych metodą manualną w porównaniu do preparatów uzyskanych przy użyciu zatwierdzonej metody PrepStain®.

Celami dodatkowymi badania były:

- Określenie, czy zgodność zatwierdzonej metody PrepStain® oraz PrepMate® jest większa niż będąca jedynie wynikiem przypadku.
- Określenie, czy zgodność zatwierdzonej metody PrepStain® oraz manualnej jest większa niż będąca jedynie wynikiem przypadku.
- Ocena wiarygodności próbki według standardów systemu PrepStain® dotyczących przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath® metodą PrepMate®.
- Ocena wiarygodności próbki według standardów systemu PrepStain® dotyczących przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath® metodą manualną.

WYPOSAŻENIE DODATKOWE PREPMATE®

PrepMate® to wyposażenie dodatkowe systemu PrepStain®, które automatyzuje dwa manualne etapy (mieszanie oraz nanoszenie) obróbki laboratoryjnej PrepStain®. PrepMate® dokładnie miesza, precyzyjnie przenosi próbkę z fiolek konserwujących SurePath® i nanosi do próbówki zawierającej odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia PrepStain®. Statyw próbek z umieszczonymi na nim fiołkami próbek, pipetami strzykawkowymi oraz próbówkami (zawierającymi płyn do wirowania w gradiencie stężenia) jest umieszczany na podajniku aparatu. Statyw zawiera do dwunastu fiolek, próbówek oraz pipet strzykawkowych ułożonych po cztery w trzech rzędach. Fiolki, pipety strzykawkowe oraz próbówki są jednorazowego użytku. Należy ich używać tylko raz w celu wyeliminowania ryzyka skażenia próbki.

METODA MANUALNA

Metoda manualna wykorzystuje manualną procedurę nanoszenia zawiesiny komórek na szkiełka podstawowe oraz barwienia preparatu. Pobieranie oraz obróbka próbek ginekologicznych jest identyczna zarówno w metodzie manualnej, jak i zatwierdzonej metodzie PrepStain® do punktu obejmującego wykorzystanie aparatu PrepStain®.

W metodzie PrepStain® odwirowany osad komórek jest umieszczany bezpośrednio na aparacie PrepStain® w celu obróbki zautomatyzowanej obróbki mającej na celu uzyskanie wybarwionych szkiełek podstawowych SurePath®.

W metodzie manualnej do odwirowanego osadu komórek po wytrząsaniu dodawana jest woda dejonizowana w celu resuspendowania oraz randomizowania próbki. Następnie próbka jest przenoszona do komory osadce zamontowanej na szkiełku podstawowym SurePath® PreCoat. Po osadzeniu próbki na szkiełku podstawowym następuje barwienie metodą Papanicolaou.

DANE SZKIELEK PODSTAWOWYCH

Tabela 17 przedstawia dane szkiełek podstawowych użytych w badaniu klinicznym. Należy zwrócić uwagę, że badanie obejmowało zestaw **trzech szkiełek podstawowych dla każdego przypadku**.

Tabela 17 Dane szkiełek podstawowych

	Liczba przypadków	Liczba szkiełek podstawowych
Całkowita liczba badanych	471	1413
Całkowita liczba wykluczonych z analizy	-68	-204
Niepełna dokumentacja	-39	-117
Nieprawidłowo przygotowane szkiełka podstawowe	-24	-72
Inne przyczyny wykluczenia *	-5	-15
Całkowita liczba objętych analizą	403	1209

* Zagubione próbki, zduplowane numery pacjentek itp.

DANE DEMOGRAFICZNE PACJENTEK

Tabela 18 przedstawia wykaz demografii wiekowej wszystkich przypadków włączonych do populacji badania.

Tabela 18 Dane demograficzne pacjentek

Wiek	Liczba przypadków
19 lub mniej	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Ogółem	403

Tabela 19 przedstawia aktualne informacje kliniczne, natomiast tabela 20 historię kliniczną wszystkich badanych kobiet. Należy zwrócić uwagę, że dopuszczalny jest więcej niż jeden punkt i całkowita liczba osób może nie zgadzać się z liczbą kobiet w populacji badania.

Tabela 19 Aktualne informacje kliniczne

Informacja kliniczna	Liczba przypadków
Cykl	241
Cykl nieregularny	69
Histerektomia	16
Ciąża	9
Po aborcji	0
Po urodzeniu dziecka	9
Po menopauzie	58
W trakcie menopauzy	1
Zmniejszenie odporności	0
Nieprawidłowe objawy ginekologiczne	0
Upławy	137
Zastępcza terapia estrogenowa	19
Wkładka wewnątrzmaciczna	2
Antykoncepcja doustna / implant	20
Brak antykoncepcji	181
Informacje niedostępne	22

Tabela 20 Historia kliniczna

Wywiad	Liczba przypadków
Poprzednia cytologia nieprawidłowa	13
Wcześniejsze nieprawidłowe krwawienia	36
Biopsja	3
Przebyty rak	1
Chemioterapia	0
Naświetlanie	0
Wziernikowanie pochwy	9
HIV/AIDS	0
HPV (wirus brodawczaka ludzkiego)	0
Opryszczka	1
BTL w wywiadzie*	1
PID w wywiadzie**	57
Brak	363

* Bilateral tubal ligation — obustronne podwiązanie jajowodów
** Pelvic inflammatory disease — zapalenie narządów miednicy mniejszej

WYNIKI BADANIA

Celem niniejszego badania było ustalenie, że szkiełka podstawowe SurePath® przygotowywane metodami PrepMate® oraz manualną są lepsze niż te, które zostały przygotowane metodą PrepStain®. Dane kliniczne mówią, że szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepMate® oraz manualną mają morfologię i jakość porównywalne do preparatów uzyskanych przy użyciu zatwierdzonej metody PrepStain®.

Dane kliniczne mówią także, że skuteczność diagnostyczna metod PrepMate® oraz manualnej jest podobna do zatwierdzonej metody PrepStain®. Ponadto wiarygodność szkiełek podstawowych SurePath® przygotowywanych metodą PrepMate® oraz manualną nie różni się od uzyskanych przy użyciu zatwierdzonej metody PrepStain®. Odkrycia te wspierają porównywalną skuteczność metod manualnej oraz PrepMate® z zatwierdzoną metodą PrepStain®.

MORFOLOGIA ORAZ JAKOŚĆ PRÓBEK

Tabela 21 przedstawia wyniki celów podstawowych. Akceptowalność szkiełek podstawowych uzyskanych przy użyciu każdej z metod oceniano zgodnie z kryteriami morfologii oraz jakości, które przedstawiono w tabeli. Dla każdego kryterium część akceptowalnych szkiełek podstawowych obliczono odpowiedni 95% przedział ufności (confidence interval — CI).

Tabela 21 Porównanie współczynników oraz przedziałów ufności (Confidence Intervals — CI) dla kryteriów akceptowalności

Metoda przygotowywania szkiełek podstawowych							
Kryteria akceptowalności		PrepStain®		PrepMate®		Metoda manualna	
		Współ- czynnik (n/N)	Ścisły 95% CI	Współ- czynnik (n/N)	Ścisły 95% CI	Współ- czynnik (n/N)	Ścisły 95% CI
	Barwienie	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Klarowno ść	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Jądro	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Cytologia	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Gniazda	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Komórko wość	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Współczynniki akceptowalności metod PrepMate® i manualnej były niemal zawsze równe lub wyższe niż metody PrepStain®. Ponadto 95% przedziały ufności dla metod PrepMate® i manualnej znacząco przekraczały wartość tych parametrów dla zatwierdzonej metody PrepStain®. Oznacza to, że szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepMate® oraz manualną mają morfologię i jakość porównywalne do preparatów uzyskanych przy użyciu zatwierdzonej metody PrepStain®. Dlatego też jakość preparatów w przypadku obu metod jest taka sama jak w przypadku metody zatwierdzonej.

ZGODNOŚĆ DIAGNOSTYCZNA

Analiza obejmuje diagnozy uzyskane dzięki szkiełkom podstawowym przygotowanym każdą z metod. Ponieważ dane pochodzą z próbek dzielonych, macierze diagnozy przedstawione w tabelach 22 i 23 opierają się na próbkach parowanych (metoda PrepMate® oraz manualna porównywane z zatwierdzoną metodą PrepStain®). W warunkach idealnych diagnoza uzyskana ze szkiełek podstawowych przygotowanych oboma metodami będzie taka sama. Stan ten został przedstawiony jako liczba szkiełek podstawowych o identycznych diagnozach, która przedstawiona po przekątnej każdej tabeli.

Pierwszą miarą zgodności jest odsetek szkiełek podstawowych na głównej przekątnej oraz odpowiadające im 95% przedziały ufności. Drugą miarę zgodności uzyskano ze statystyki kappa, którą obliczono i przetestowano dla każdego porównania. Test określa, czy zgodność pomiędzy dwiema metodami jest większa niż wynikałoby to z przypadku. Ponieważ obserwacje są uporządkowane, ważniejsze są obserwacje, które leżą na lub w pobliżu głównej przekątnej. Ważona statystyka kappa przyznaje więcej wagi obserwacjom, które leżą na lub w pobliżu głównej przekątnej.

PORÓWNANIE METOD PREPMATE® ORAZ ZATWIERDZONEJ PREPSTAIN®

W tabeli 22 liczba szkiełek podstawowych na głównej przekątnej to 367 (2+334+8+6+5+1+1), a stosunek szkiełek leżących na głównej przekątnej wynosi 0,9107 (367/403) przy 95% przedziale ufności 0,8785 do 0,9366.

Niezadowolające szkiełka podstawowe są wyłączone z tabeli poprzez usunięcie pierwszego rzędu oraz pierwszej kolumny — pozostało ich 397. Stosunek szkiełek podstawowych na głównej przekątnej to 0,9194 (365/397) przy 95% przedziale ufności 0,8881 do 0,9442.

Wyniki przedstawione w tabeli 22 wskazują, że zatwierdzona metoda PrepStain® oraz metoda PrepMate® mają wyższy stosunek zgodnych diagnostycznie szkiełek podstawowych, na co wskazuje stosunek szkiełek podstawowych na głównej przekątnej tabeli. Ponadto analiza ważonej kappa wskazuje, że zgodność jest o wiele wyższa, niż wynikałoby to z przypadku.

Tabela 22 Tablica korelacyjna diagnoz metodami PrepStain® i PrepMate®

Diagnoza metodą PrepStain®										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Ogółem
Diagnoza metodą PrepMate®	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	15
	Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Ogółem	5	348	12	17	9	11	0	1	403

PORÓWNANIE METOD MANUALNEJ ORAZ ZATWIERDZONEJ PREPSTAIN®

W tabeli 23 liczba szkiełek podstawowych na głównej przekątnej to 353 (3+315+6+10+7+11+1), a stosunek szkiełek leżących na głównej przekątnej wynosi 0,8759 (353/403). Granice 95% przedziału ufności dwumianowej to 0,8397 do 0,9065.

Niezadowolające szkiełka podstawowe wyłączano z tabeli, usuwając pierwszy rząd oraz pierwszą kolumnę — pozostało ich 398. Stosunek szkiełek podstawowych na głównej przekątnej to 0,8794 (350/398) przy 95% przedziale ufności wynoszącym 0,8433 do 0,9097. Wyniki przedstawione w tabeli 23 wskazują, że zatwierdzona metoda PrepStain® oraz metoda manualna mają wyższy stosunek zgodnych diagnostycznie szkiełek podstawowych, na co wskazuje stosunek szkiełek podstawowych na głównej przekątnej tabeli. Ponadto analiza ważonej kappa wskazuje, że zgodność jest o wiele wyższa niż wynikałoby to z przypadku. Dlatego też skuteczność diagnostyczna obu metod jest taka sama jak metody zatwierdzonej.

Tabela 23 Tablica korelacyjna diagnoz metodami PrepStain® i manualną

Diagnoza metodą PrepStain®										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Ogółem
Diagnoza metodą manualną	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	25
	Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Ogółem	5	348	12	17	9	11	0	1	403

WIARYGODNOŚĆ SZKIELKA PODSTAWOWEGO

Dla każdej metody preparatyki oceniano wiarygodność szkiełka podstawowego. Dane analizowano przy użyciu dwóch testów McNemara.¹⁸

Tabela 24 przedstawia wyniki wiarygodności podczas porównywania metody PrepMate® z zatwierdzoną metodą PrepStain®.

Tabela 24 Wyniki wiarygodności szkiełek podstawowych przygotowanych metodą PrepMate® i PrepStain®

Wynik metody PrepStain®			
Wynik metody PrepMate®	SAT lub SBLB		UNSAT
	SAT lub SBLB	UNSAT	
	398	3	401
	0	2	2
398		5	403

Tabela 25 przedstawia wyniki wiarygodności podczas porównywania metody manualnej z zatwierdzoną metodą PrepStain®.

Tabela 25 Wyniki wiarygodności dla szkiełek podstawowych przygotowanych metodą manualną i PrepStain®

Wynik metody PrepStain®			
Wynik metody manualnej	SAT lub SBLB		UNSAT
	SAT lub SBLB	UNSAT	
	398	2	400
	0	3	3
398		5	403

Te dwa porównania wykazują, że metody PrepMate® oraz manualna nie różnią się pod względem wiarygodności od zatwierdzonej metody PrepStain®.

BADANIE POBIERANIA BEZPOŚREDNIO DO FIOŁKI

Po wstępnym zatwierdzeniu systemu PrepStain® przez FDA firma TriPath Imaging przeprowadziła duże, wieloośrodkowe badanie systemu PrepStain® użytkowanego zgodnie z przeznaczeniem, czyli w warunkach pobierania próbek bezpośrednio do fiołek. Poprzednie badania kliniczne wykorzystywały metodę „dzielonej próby”, w której próbki były najpierw wykorzystywane do przygotowania konwencjonalnego szkiełka podstawowego z rozmazem Pap, a pozostałą część próbki umieszczano w płynie konserwującym SurePath® i poddawano obróbce w systemie PrepStain® w celu uzyskania szkiełka podstawowego SurePath®. Powszechnie wiadomo, że metody dzielenia próbek zaniżają rzeczywistą skuteczność testu przygotowywanego z resztkowego materiału komórkowego.¹²

Niniejsze badanie porównywało skuteczność szkiełek podstawowych SurePath® wykonanych w systemie PrepStain® z próbek pobranych bezpośrednio do fiołki ze skutecznością konwencjonalnych rozmazów. Wyniki uzyskane z SurePath® porównano z historycznymi wynikami rozmazów. Badanie w szczególności oceniało, czy szkiełka podstawowe SurePath® poprawiają skuteczność wykrywania zmian dużego stopnia w obrębie nabłonka płaskiego szyjki macicy (HSIL), adenogrzczolaka miejscowego oraz raka (HSIL+). Dla obu rodzajów szkiełek podstawowych zebrano wszystkie dostępne dane biopsji.

Preparat SurePath® obejmował 58 580 szkiełek podstawowych uzyskanych z 57 klinik, które w niemal 100% przeszły z pobierania konwencjonalnych rozmazów na próbki SurePath®. Probki pobierane w tych klinikach były wysyłane w celu obróbki do trzech ośrodków badań klinicznych.

Populacja konwencjonalna obejmowała 58 988 szkiełek podstawowych pochodzących z tych samych klinik co szkiełka podstawowe SurePath®. Tę populację historyczną zebrano, zaczynając od najnowszych preparatów przygotowanych przed przedstawieniem się klinik na szkiełka podstawowe SurePath®, a następnie cofano się w czasie do uzyskania dla każdej kliniki liczby preparatów zbliżonej do preparatów SurePath®.

Wyniki badania wykazują współczynnik wykrywalności na poziomie 405/58 580 dla szkiełek podstawowych SurePath® w porównaniu z 248/58 988 dla szkiełek podstawowych konwencjonalnych, co daje odpowiednio współczynniki wykrywalności 0,691% i 0,420%, (patrz tabela 26). Dla tych ośrodków i populacji badań oznacza to 64,4% (p<0,00001) wzrost wykrywalności zmian HSIL+ po rozpoczęciu stosowania preparatów SurePath®.

Tabela 26 Porównanie współczynników wykrywalności w zależności od ośrodka

HSIL

Ośrodek	Konwencjonalne			SurePath®		
	Ogółem	HSIL+	Odsetek	Ogółem	HSIL+	Odsetek
1	41 274	216	0,523	40 735	300	0,736
2	10 421	19	0,182	10 676	78	0,731
3	7293	13	0,178	7169	27	0,377
Ogółem	58 988	248	0,420	58 580	405	0,691

LSIL+

Ośrodek	Konwencjonalne			SurePath®		
	Ogółem	LSIL+	Odsetek	Ogółem	LSIL+	Odsetek
1	41 274	765	1,853	40 35	1501	3,685
2	10 421	96	0,921	10 676	347	3,250
3	7293	99	1,357	7169	127	1,772
Ogółem	58 988	960	1,627	58 580	1975	3,371

ASCUS+

Ośrodek	Konwencjonalne			SurePath®		
	Ogółem	ASCUS+	Odsetek	Ogółem	ASCUS+	Odsetek
1	41 274	1439	3,486	40 735	2612	6,412
2	10 421	347	3,330	10 676	689	6,454
3	7293	276	3,784	7169	285	3,975
Ogółem	58 988	2062	3,496	58 580	3586	6,122

Niezadowolające

Ośrodek	Konwencjonalne			SurePath®		
	Ogółem	UNSAT+	Odsetek	Ogółem	UNSAT+	Odsetek
1	41 274	132	0,320	40 735	37	0,091
2	10 421	163	1,564	10 676	89	0,834
3	7293	20	0,274	7169	4	0,056
Ogółem	58 988	315	0,534	58 580	130	0,222

Uwaga: Możliwa jest zmienność pomiędzy ośrodkami. Każde laboratorium musi starannie monitorować jakość swojej pracy

PROCEDURA

Pełne procedury przygotowywania szkiełek podstawowych SurePath® zostały opisane w podręczniku operatora systemu PrepStain®.

PIŚMIENNICTWO

1. Kurman RJ, Solomon D (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses: Definitions, Criteria and Explanatory Notes for Terminology and Specimen Adequacy. New York, Springer Verlag, 1994
2. Bishop JW: Comparison of the CytoRich® System with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2,032 cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41:15-23
3. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi M: Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears: Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42:189-197
4. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich®: An improved automated cytology preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9:417-422
5. Grohs HK, Zahniser DJ, Geyer JW: Standardization of specimen preparation through mono/thin-layer technology in Automated Cervical Cancer Screening. Edited by HK Grohs, OAN Husain. New York, Igaku-Shoin, 1994, pp. 176-185
6. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J: The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. Acta Cytol 1998; 42:171-177
7. McGoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol 1996; 40:107-119
8. Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Alonso L, Hohener R, Puget E: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology: Emphasis on suboptimal specimens. Acta Cytol 1996; 40:496-500
9. Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, Mulford OK, Atkison KM: Clinical trials of the CytoRich® specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41:24-29
10. Center For Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. Points to consider: Cervical cytology devices. July 25, 1994. This document is available from the Division of Small Manufacturers (DSMA), 1-800-638-2041
11. Shatzkin A, Conner RJ, Taylor PR, Bunnag B: Comparing new and old screening tests when a reference procedure cannot be performed on all screeners. Am J Epidemiol 1987; 125: 672-678
12. Austin RM, Ramzy I: Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. A review of accumulated data. Acta Cytol 1998; 42: 178-184
13. McNemar Q: Note on the sampling error of the difference between correlated proportions or percentages. Psychometrika 1947; 12:153-7
14. Mayeaux EJ, Harper MB, Fleurette A, Pope JB, Phillips GS: A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. J Fam Pract 1995; 40: 57-62
15. College of American Pathologists. Interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology (PAP). 1995
16. Bur M, Knowles K, Pekow P, Corral O, and Donovan J: Comparison of ThinPrep preparations with conventional cervicovaginal smears: Practical considerations. Acta Cytol 1995; 39: 631-642
17. Evans SK, Wilbur DC: Identification of endocervical cells and microorganisms on cervical thin layer cytology specimens: Comparison to paired conventional smears. Acta Cytol 1993; 37: 776
18. Fleiss, Joseph L. Statistical Methods for Rates and Proportions. 2nd Ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
19. Solomon D, Nayar R (editors): The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology. New York, Springer Verlag, 2004

NAZWA ORAZ SIEDZIBA

TriPath Imaging®, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA (800) 426-2176
~~TRIPATH~~IMAGING®

TriPath Imaging, Inc., 780 Plantation Drive, Burlington, NC 27215.
PrepStain® information: 1-800-426-2176 or 336-222-9707
Faks: 336-222-8819.
Numery patentów w USA: 5,356,814, 5,346,831, 5,419,279, 5,357,977.
Numery patentów w Kanadzie: Numery patentów w Japonii: 2837076, 2781513.
Numery patentów Unii Europejskiej: 0590504, 0590447, 0590506B.
Trwają postępowania patentowe w USA i w innych krajach.

MDCI Ltd
1 Liverpool Gardens
Worthing BN11 1SL UK

EC REP
Oficjalny przedstawiciel

©2008 TriPath Imaging, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.