

Becton, Dickinson and Company	BD Diagnostics - North Carolina Quality Systems Cover Sheet	No: 779-07085-00 Cover for 128 page(s) Revision: F
Title: PRODUCT INSERT: BD PREPSTAIN SYSTEM MULTILINGUAL (PREQUOT)		

See Separate Document

Owner: TERRY BILLYARD / MARKETING			
Rev	Co No.	Revision History	Effective Date
XA	6047	Development Release.	05/21/08
XB	6460	Updated to add additional language.	02/06/09
A	7247	Updated to add edits from FDA review. Change from Development Release to Production Release.	11/12/09
B	7409	Updated with translations	01/12/10
C	7558	Add print requirements to the coversheet. No changes to the Product Insert.	04/01/10
D	7886	Added Lithuanian and Romanian translations, R. Mayur was an owner	09/29/10
E	8333	Update EC Rep and address. Delete all patent information. Change owner from T. Mathis to T. Billyard.	06/07/11
F	8683	Add REF numbers. Add Australian contact information to English; add Brazilian contact information to Portuguese.	08/05/11
Owner Signature / Date T. Billyard 08/05/11		Doc Control / Quality Assurance Approval / Date M. Cole 08/05/11	

Notes:

- Document contains following languages:
English
German
French
Spanish - Continental
Italian
Dutch
Danish
Portuguese - Continental
Greek
Turkish
Swedish
Russian
Polish
Lithuanian
Romanian
- Paper:
8 ½" x 11" folded (11"x 17" flat)
Color: White
Printing: Black, no smearing, double-sided
Saddle Stitched
- Inspect per procedure 838-07096-00 and record results on Form 838-07096-01
- Approved Supplier: PIP

Form No: 818-05767-08 Rev C

PrepStain® System Product Insert

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

INTENDED USE

The PrepStain® 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 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}

SurePath® Preservative Fluid is an appropriate collection and transportation medium for gynecologic specimens tested with BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ and *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ Amplified DNA Assays. Refer to the assay package inserts for instructions on using SurePath® Preservative Fluid to prepare specimens for use with these assays.

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.

* Note: For ancillary testing, the aliquot of up to 0.5 mL may be removed after this vortexing step in the SurePath® LBC Test process.

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.
- A volume of 8.0 ± 0.5 mL of the sample collected in the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial is required for the SurePath® LBC Test process.

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 breathe 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). SurePath® Preservative Fluid containing cytologic sample intended for use with the BD ProbeTec™ CT Q⁺ and GC Q⁺ Amplified DNA Assays can be stored and transported for up to 30 days at 2° - 30° C prior to transfer to the Liquid-Based Cytology Specimen (LBC) Dilution Tubes for the BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.
- 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.

OPTIONAL ALIQUOT REMOVAL

- Sufficient volume is available in the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial to allow removal of up to 0.5 mL of homogeneous mixture of cells and fluid for ancillary testing, prior to the SurePath® Pap Test while still allowing sufficient volume for Pap testing.
- While there is no evidence that removal of an aliquot from the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial affects the quality of the specimen for cytology testing, rare instances of misallocation of pertinent diagnostic material may occur during this process. Healthcare providers may need to acquire a new specimen if the results do not correlate with the clinical history of the patient. Furthermore, cytology addresses different clinical questions than sexually transmitted disease (STD) testing; therefore, aliquot removal may not be suitable for all clinical situations. If necessary, a separate specimen may be collected for STD testing rather than taking an aliquot from the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial.
- Aliquot removal from low-cellularity specimens may leave insufficient material in the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial for preparation of a satisfactory SurePath® Pap test.
- Aliquot must be removed prior to processing the SurePath® Pap Test. Only one aliquot may be removed from the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial prior to performing the PapTest, regardless of the volume of the aliquot.

Procedure

- In order to ensure a homogenous mixture, the SurePath® Preservative Fluid Collection Vial must be vortexed for 10-20 seconds and the 0.5 mL aliquot must be removed within one minute of vortexing.
- A polypropylene aerosol barrier pipette tip that is sized appropriately for the volume being withdrawn must be used for aliquot removal. *Note:* Serological pipettes should not be used. Good laboratory practices must be followed to avoid introducing contaminants into the SurePath® Preservative Fluid collection vial or the aliquot. Aliquot removal should be performed in an appropriate location outside an area where amplification is performed.
- Visually check the aliquot material in the pipette for evidence of large gross particulates or semi-solids. Evidence of such material encountered while withdrawing the aliquot material should prompt return of all the material to the specimen vial and disqualify the specimen for ancillary testing prior to performing the Pap test.
- For instructions on processing the aliquot using the BD ProbeTec™ CT Q⁺ and GC Q⁺ Amplified DNA Assays, refer to the assay Package Inserts provided by the manufacturer.

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).

SurePath® Preservative Fluid containing cytologic sample intended for use with the BD ProbeTec™ CT Q⁺ and GC Q⁺ Amplified DNA Assays can be stored and transported for up to 30 days at 2° – 30° C prior to transfer to the Liquid-Based Cytology Specimen (LBC) Dilution Tubes for the BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.

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:

- (1) 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

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

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

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	113	205
	Error	180	229

Success = ASCUS/AGUS
Error = WNL & Reactive/Reparative

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

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	140	63
	Error	54	86

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)

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	160	28
	Error	36	38

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)

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	19	2
	Error	5	1

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)

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	94	33
	Error	67	68

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 cytotechnologist, 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

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error
	Success	153	26
	Error	24	6

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

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	46
	Error	21	10	31
		46	31	77

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:				
<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> 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

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	SAT	Conventionally Prepared Slide			
		SAT	SBLB	UNSAT	
		5,868	1,693	46	
		579	772	34	
SurePath® Slide	UNSAT	21	24	9	54
		6,468	2489	89	9,046

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

PrepStain® Prepared SurePath® Slide	SAT	Conventionally Prepared Slide		
		SAT	UNSAT	
		8,807	151	
		70	18	
SurePath® Slide	UNSAT			88
		8,877	169	9,046

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	
		398	3	401
	UNSAT	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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NAME AND PLACE OF BUSINESS

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. All Rights Reserved.

Australian Representative:

Becton Dickinson Pty Ltd.

4 Research Park Drive,

Macquarie University Research Park,

North Ryde,

NSW 2113 Australia

©2011 TriPath Imaging, Inc. All Rights Reserved.

PrepStain® System – Produktbeilage

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

VERWENDUNGSZWECK

Das PrepStain® System ist ein Dünnschicht-Zellpräparationsverfahren auf Flüssigkeitsbasis. Das PrepStain® System produziert SurePath®-Objektträger, die die herkömmlichen gynäkologischen Pap-Abstriche ersetzen. Die SurePath®-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.

Die SurePath® Preservative Fluid (Konservierungslösung) ist ein geeignetes Entnahme- und Transportmedium für gynäkologische Proben, die mit den amplifizierten BD ProbeTec™ DNA-Assays für *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ und *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ getestet wurden. Anweisungen zur Verwendung der SurePath® Preservative Fluid (Konservierungslösung), um die Proben für die Tests mit den Assays zu präparieren, sind in der Packungsbeilage der Assays enthalten.

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 zu schaffen, wie er in routinemäßigem Zytologie-Screening und der Kategorisierung entsprechend The 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 überlappendes 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 damit, dass qualifiziertes medizinisches Personal mit einer Abstrichbürste (z. B. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss – Niederlande) oder einer Kombination aus Abstrichbürste/Kunststoffspatel (z. B. Cytobrush® Plus GT und Pap Perfect® Spatel, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) mit abnehmbarem Kopf eine gynäkologische Probe entnimmt. Anstatt die mit den Abstrichgeräten entnommenen Zellen auf einen Glasobjektträger auszustreichen, werden die Köpfe der Geräte vom Griff gelöst und in eine Flasche mit SurePath® Preservative Fluid (Konservierungslösung) gegeben. Die Flasche wird verschlossen, etikettiert und mit den entsprechenden Unterlagen zur Bearbeitung an das Labor versandt. Die Köpfe der Abstrichgeräte werden zu keiner Zeit aus der Konservierungsflasche mit der entnommenen Probe entfernt.

Im Labor wird die konservierte Probe durch Vortexieren* vermischt und in ein Röhrchen mit PrepStain® Density Reagent (Dichtereagenz) gegeben. Durch Anreicherung mittels Zentrifugalsedimentierung mit dem Dichtereagenz werden nicht-diagnostische Gewebereste und überschüssige Entzündungszellen teilweise aus der Probe entfernt. Nach der Zentrifugation werden die Zellpellets resuspendiert, vermischt und in eine PrepStain® Settling Chamber (Absetzkammer) übertragen, die auf einem SurePath® PreCoat (beschichteten) Objektträger angebracht ist. Die Zellen werden durch Schwerkraft sedimentiert und anschließend mit einem abgeänderten Papanicolaou-Färbeverfahren gefärbt. Der Objektträger wird mit Xylol oder einem adäquaten Ersatz 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 Patientin haben, unter dem Mikroskop untersucht.

* Hinweis: Ein Aliquot von bis zu 0,5 mL kann für Zusatztests im SurePath® LBC Test (LBC-Testverfahren) nach diesem Vortexier-Schritt entnommen werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Gynäkologische Proben für Präparationen mit dem PrepStain® System müssen mit einer Abstrichbürste oder einer Kombination aus Abstrichbürste/Kunststoffspatel mit abnehmbarem Kopf/Köpfen entsprechend dem vom Hersteller vorgegebenen Standardverfahren zur Probenentnahme entnommen werden. Holzspatel dürfen in Verbindung mit dem PrepStain® System nicht verwendet werden. Kombinationen aus Abstrichbürste/Kunststoffspatel, deren Köpfe nicht abnehmbar sind, sind ebenfalls nicht mit dem PrepStain® System zu verwenden.
- 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.
- Ein Volumen von 8,0 ± 0,5 mL der im SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) enthaltenen Probe ist für das SurePath® LBC Test process (LBC-Testverfahren) erforderlich.

Reagenzien



Zur In-vitro-Diagnostik. Nur zur Verwendung im Labor.

Warnhinweise



SurePath® Preservative Fluid (Konservierungslösung) enthält eine wässrige Lösung aus denaturiertem Ethanol. Die Mischung enthält geringe Mengen Methanol und Isopropanol. Nicht einnehmen.



Das PrepStain® Density Reagent (Dichtereagenz) enthält Natriumazid. Nicht einnehmen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen stets mit viel Wasser nachspülen, um eine Ansammlung der Azide zu verhindern. Weitere Angaben finden Sie in der Publikation DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, herausgegeben von den Centers for Disease Control. Siehe Website: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG-Kombo-Zytologie-Färbemittel enthält Alkohol. Giftig bei Verschlucken. Dampf nicht einatmen. Auf ausreichende Lüftung achten. Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden. Leicht entzündlich.

SICHERHEITSHINWEISE

- 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 °C bis 30 °C) gelagert und vor dem Verfallsdatum verwendet werden. SurePath® Preservative Fluid without cytologic samples (Konservierungslösung ohne zytologische Proben) kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden. SurePath® Preservative Fluid without cytologic samples (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. SurePath® Preservative Fluid containing cytologic sample (Konservierungslösung mit zytologischen Proben) zur Verwendung mit den amplifizierten BD ProbeTec™ CT Q⁺- und GC Q⁺-DNA-Assays kann bis zu 30 Tage bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 30 °C gelagert und transportiert werden, bevor sie in die Verdünnungsröhrchen für zytologische Proben auf Flüssigkeitsbasis (LBC) für die amplifizierten BD ProbeTec™ CT Q⁺- und GC Q⁺-DNA-Assays übertragen wird.
- Spritzer und Aerosolbildung sind zu vermeiden. Es ist ein entsprechender Hand-, Augen- und Kleiderschutz zu tragen.
- SurePath® Preservative Fluid (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 samples (Konservierungsproben), die mit 10⁶ CFU/mL jeder Spezies inokuliert wurden, zeigten nach 14 Tagen Inkubation (28 Tage für *Mycobacterium tuberculosis*) unter Standardbedingungen kein Wachstum. Die allgemeinen Sicherheitshinweise für einen sicheren Umgang mit biologischen Flüssigkeiten sind dennoch jederzeit einzuhalten.
- Ein Nichtbeachten der empfohlenen Verfahren, wie sie im Benutzerhandbuch des PrepStain® Systems beschrieben sind, kann die Leistung beeinträchtigen.

OPTIONALE ALIQUOT-ENTNAHME

- Das Volumen des SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) reicht aus, um bis zu 0,5 mL einer homogenen Zell-/Flüssigkeitsmischung für Zusatztests entnehmen zu können, bevor der SurePath® Pap-Test durchgeführt wird, sodass für diesen immer noch genügend Volumen zur Verfügung steht.
- Obwohl es keine Anzeichen dafür gibt, dass das Entnehmen eines Aliquots aus dem SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) die Probenqualität für Zytologie-Tests beeinträchtigt, kann bei diesem Verfahren in seltenen Fällen eine Fehlallokation von relevantem Probenmaterial entstehen. Der Mediziner muss möglicherweise eine neue Probe entnehmen, wenn die Ergebnisse nicht mit der Krankengeschichte der Patientin übereinstimmen. Des Weiteren werden im Rahmen der Zytologie Tests hinsichtlich unterschiedlicher klinischer Aspekte durchgeführt, nicht nur Tests auf sexuell übertragene Krankheiten (STD), deshalb ist die Aliquot-Entnahme nicht unbedingt für alle klinischen Situationen geeignet. Bei Bedarf sollte eine separate Probe für STD-Tests und kein Aliquot aus dem SurePath® Versandgefäß für Konservierungslösung entnommen werden.
- Die Aliquot-Entnahme von Proben mit niedriger Zellularität kann dazu führen, dass nur noch unzureichendes Material im SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) vorhanden und somit die Präparation eines zufriedenstellenden SurePath® Pap-Tests nicht möglich ist.
- Das Aliquot muss vor Durchführung des SurePath® Pap-Tests entnommen werden. Vor Durchführung des Pap-Tests darf unabhängig vom Volumen des Aliquots nur ein Aliquot aus dem SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) entnommen werden.

Verfahren

- Um eine homogene Mischung sicherzustellen, muss das SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) 10 – 20 Sekunden lang vortexiert, und das Aliquot von 0,5 mL muss innerhalb von einer Minute nach dem Vortexieren entnommen werden.
- Für die Aliquot-Entnahme muss eine Polypropylen-Pipettenspitze mit Aerosolbarriere verwendet werden, deren Größe dem zu entnehmenden Probenvolumen angepasst ist. *Hinweis:* Serologische Pipetten dürfen nicht verwendet werden. Es müssen gute Laborpraktiken eingehalten werden, um zu verhindern, dass Verunreinigungen in das SurePath® Preservative Fluid collection vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) oder das Aliquot gelangen. Die Aliquot-Entnahme muss an einem angemessenen Ort außerhalb von Bereichen, in denen die Amplifikation durchgeführt wird, stattfinden.
- Das Aliquot in der Pipette muss visuell auf Vorhandensein von großen, groben Partikeln oder halbfesten Körpern überprüft werden. Bei Vorhandensein solcher Materialien beim Entnehmen des Aliquots muss das gesamte Material sofort zurück in die Probenflasche gegeben und die Probe vor dem Durchführen des Pap-Tests vom Zusatztest ausgeschlossen werden.
- Anweisungen zum Bearbeiten des Aliquots mithilfe der amplifizierten BD ProbeTec™ CT Q⁺- und GC Q⁺-DNA-Assays sind in den vom Hersteller bereitgestellten Packungsbeilagen der Assays enthalten.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Detaillierte Angaben über die Reagenzien, Bestandteile und Zubehörteile sind im Benutzerhandbuch des PrepStain® Systems enthalten. Nicht alle der hier aufgeführten Materialien werden für die manuelle Präparation (ohne PrepStain® Gerät) der SurePath®-Objekträger benötigt.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- PrepStain® Gerät
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung), einschließlich SurePath® Preservative Fluid (Konservierungslösung)
- Abstrichgerät(e) mit abnehmbarem Kopf/Köpfen
- PrepStain® Density Reagent (Dichtereagenz)
- PrepStain® Syringing Pipettes (Spritzenpipetten)
- PrepStain® Settling Chambers (Absetzkammern)
- Zytologisches Färbe-Kit
- SurePath® PreCoat slides (beschichtete Objekträger)
- Zentrifugenröhrchen
- Objekträger- und Röhrchenhalter
- Einwegspitzen zum Transferieren und Absaugen

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- Vortex-Mixer
- Entionisiertes Wasser (pH 7,5 bis 8,5)
- Isopropanol und Reagenzalkohol
- Klärmittel, Eindeckmedien und Deckgläser

Lagerung

SurePath® Preservative Fluid without cytologic samples (Konservierungslösung ohne zytologische Proben) kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden.

SurePath® Preservative Fluid with cytologic samples (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.

SurePath® Preservative Fluid containing cytologic sample (Konservierungslösung mit zytologischen Proben) zur Verwendung mit den amplifizierten BD ProbeTec™ CT Q⁺- und GC Q⁺-DNA-Assays kann bis zu 30 Tage bei einer Temperatur zwischen 2 und 30 °C gelagert und transportiert werden, bevor sie in die Verdünnungsröhrchen für zytologische Proben auf Flüssigkeitsbasis (LBC) für die amplifizierten BD ProbeTec™ CT Q⁺- und GC Q⁺-DNA-Assays übertragen wird.

DIAGNOSTISCHE INTERPRETATION UND ADÄQUATHEIT DER PRÄPARATION

Nach der durch TriPath Imaging autorisierten Benutzerausbildung für das PrepStain® System und die SurePath®-Objekträger werden auf SurePath®-Objekträger die zytologischen diagnostischen Kriterien des Bethesda-Systems angewendet, wie sie gegenwärtig in zytologischen Labors für herkömmliche Pap-Abstriche verwendet werden.¹ Das Bethesda 2001 Reporting System empfiehlt neue Richtlinien für Präparate auf Flüssigkeitsbasis und definiert die Bestimmung adäquater Zellularität in Bezug auf diese Präparate.

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

- Eine unzureichende Anzahl der für die Diagnose benötigten Zellen (weniger als ca. 5.000 squamöse Epithelzellen pro Präparat). Nachstehend folgen empfohlene Verfahren zum Schätzen der Anzahl gut erhaltener squamöser Epithelzellen auf den SurePath®-Objekträgern:
 - Für jedes beim Screening benutzte Mikroskop das Handbuch des Herstellers konsultieren oder den Hersteller des Mikroskops kontaktieren, um die Größe des Sichtfeldes mit dem bevorzugten Okular und dem 40fachen Objektiv zu bestimmen. Die Größe des Sichtfeldes kann auch mit einem Hämozytometer oder einer ähnlichen mikroskopischen Messkala für Objekträger berechnet werden (Größe des Sichtfeldes = πr^2 , wobei r für den Radius des Sichtfeldes steht).

Die minimale durchschnittliche Anzahl an Zellen pro 40fachem Objektiv sollte durch Dividieren des 130 mm² großen durchschnittlichen Zellablagebereichs auf dem SurePath®-Objekträger durch den Bereich des Feldes für das spezifische Mikroskop bestimmt werden. Das Ergebnis wird dann in das 5.000-Zellen-Minimum aufgeteilt. Die daraus resultierende Anzahl ist die empfohlene minimale adäquate Durchschnittsanzahl von Epithelzellen im Sichtfeld eines 40fachen Objekts. Diese Anzahl notieren und als Referenz für den Zytologen aufbewahren. Die Bethesda 2001-Richtlinien, die die ungefähre Anzahl der Zellen pro Sichtfeld für ein 13-mm-Präparat angeben.

- Horizontal oder vertikal entlang des Zentrums des Durchmessers eines Präparats sollten mindestens 10 Felder 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.

- 75 % oder mehr der Zellbestandteile sind durch Entzündungen, Blut, Bakterien, Schleim oder Artefakte verunreinigt, was eine zytologische Interpretation des Objekträgers ausschließt.

Jede abnormale oder fragliche Beobachtung bei einem Screening sollte zur Überprüfung und Diagnose an einen Pathologen weitergeleitet werden. Der Pathologe sollte alle diagnostisch bedeutsamen Veränderungen der Zellen und der Morphologie beachten.

LEISTUNGSMERKMALE: 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®-Objekträger 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 Patientengruppen und Laboreinrichtungen zu beurteilen. Außerdem wurde die Adäquatheit für beide Präparationsarten beurteilt.

Gemäß den „Points to Consider“ der FDA (US-Nahrungsmittel- und Medikamentenbehörde) zu zervikalzytologischen Geräten¹⁰ wurde zuerst jeweils ein herkömmlicher Pap-Abstrich hergestellt, dann wurde das auf der Abstrichbürste verbliebene Untersuchungsmaterial in ein kleines SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) gegeben.

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

In Übereinstimmung 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 für jeden 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 post-menopausal. Von den 8.807 Patientinnen der Studie hatten 1.059 eine Krankengeschichte mit abnormalen Pap-Abstrichen. Die gesamte untersuchte Patientengruppe bestand aus den folgenden ethnischen Gruppen: Kaukasisch (44 %), schwarz (30 %), asiatisch (12 %), lateinamerikanisch (10 %), amerikanische Ureinwohner (3 %) und andere (1 %).

Ausgeschlossen wurden Untersuchungen mit inkorrekten Unterlagen, Patientinnen, die jünger als 16 Jahre waren, Patientinnen mit einer Hysterektomie und zytologisch unzureichende und inadäquate Proben. Indem Patientinnen mit hohem Risiko, selten untersuchte sowie überwiesene Patientinnen in die Studie eingeschlossen wurden, wurde versucht, möglichst viele Fälle von Zervikalkarzinomen und präkanzerösen Erkrankungen in die Studie einzuschließen.

Von insgesamt 10.335 Patientinnen wurden 9.046 aufgenommen und in acht unterschiedlichen Studienzentren untersucht. Von diesen 9.046 Patientinnen erfüllten 8.807 die Bedingungen des Bethesda-Systems zur Adäquatheit der Präparate und standen für eine vollständige Diagnose mit beiden Präparaten zur Verfügung.

STUDIENERGEBNISSE

Ziel dieser klinischen Studie war es, die Leistung der mit dem PrepStain® System hergestellten SurePath®-Objekträger mit herkömmlich hergestellten Pap-Abstrichen zu vergleichen. Die Objekträger wurden für beide Präparattypen entsprechend den Kriterien des Bethesda-Systems klassifiziert. Das Studienprotokoll wurde zu Gunsten des herkömmlichen Pap-Abstrichs beeinflusst, da immer zuerst der herkömmliche Pap-Abstrich hergestellt wurde und dabei für den SurePath®-Objekträger 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 vom Referenzpathologen festgelegt und mit Diagnosen aus den Studienzentren verglichen. Der unabhängige Referenzpathologe basierte die Referenzdiagnose auf die abnormalere Diagnose 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 verwendet. 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								
Zentrumsnr.	Objekt-trägertyp	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Insgesamt
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
Insgesamt	SP	7.759	509	36	342	135	26	8.807
	CN	7.768	531	39	271	177	21	8.807

SP = SurePath®
CN = Conventional (Herkömmlich)

Tabelle 2 zeigt einen direkten Vergleich aller 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 aller Zentren – Kein Referenzpathologe

Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich								
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Insgesamt
	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
	Insgesamt	7.768	531	39	271	177	21	8.807

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 durch die Referenzmethode als ASCUS/AGUS bezeichnet werden – diskordante Fehleranalyse

Herkömmlich präparierter Objektträger				
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)	Erfolg		Fehler	
	Erfolg	113	205	318
		180	229	
	Fehler	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 der diskordanten Fehler, um die Sensitivität der Methoden 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 durch die Referenzmethode als LSIL bezeichnet werden – diskordante Fehleranalyse

Herkömmlich präparierter Objektträger				
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)	Erfolg		Fehler	
	Erfolg	140	63	203
		54	86	
	Fehler	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 Sensitivität 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 durch die Referenzmethode als HSIL+ bezeichnet werden (LSIL wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet)

Herkömmlich präparierter Objektträger				
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)	Erfolg		Fehler	
	Erfolg	160	28	188
		36	38	
	Fehler	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 wurde LSIL nicht als Fehler, sondern als Diskrepanz 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 wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet, LSIL wurde als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (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: $\chi^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 2
Fehler bei SurePath®: 5

Tabelle 6 zeigt Ergebnisse (alle Zentren) für Fälle, die durch die 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 einbezogen. Diese Daten werden in Tabelle 9 gezeigt.

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (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: $\chi^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 33
Fehler bei SurePath®: 67

Tabelle 7 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologie als HSIL+ bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Obwohl es nicht dem ursprünglichen Studienprotokoll entspricht¹⁰, wurde ein statistischer Vergleich der Methoden durchgeführt, bei dem LSIL als diagnostischer Fehler im Vergleich zu einem Fall, den der unabhängige Referenzpathologe 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 als 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 2.438 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 anschließend alle diskordanten Fälle. Diese strengere Referenzmethode verringerte die Anzahl der HSIL+-Referenzfälle von 262 der ursprünglichen Studie 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 unzureichend befunden; und die verbleibenden 2 Fälle waren für eine Beurteilung in einer maskierten Neubestimmung nicht verfügbar.

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (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: $\chi^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 26
Fehler bei SurePath®: 24

Tabelle 8 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologie als HSIL+ bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. In diesem Vergleich wurde LSIL als diagnostischer 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 Neubestimmungstudie: Diskordante Fehleranalyse für Krebsfälle (HSIL wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet, LSIL wurde als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (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: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 3
Fehler bei SurePath®: 3

Tabelle 9 zeigt Ergebnisse für Fälle, die durch die neue Referenzmethode als Krebs bezeichnet wurden (alle Zentren). Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Ein Fehler entstand aus einer LSIL-Auswertung. 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 2.097 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 Neubestimmungstudie: Direkter Vergleich der 2.097 Ergebnisse der Zentren – Kein Referenzpathologe

		Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Insgesamt
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)	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
	Insgesamt	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Von den oben beschriebenen 2.097 neuen Fällen wurden 77 von den Referenzpathologen als HSIL+ bezeichnet. In Tabelle 11 wird die Sensitivitätsanalyse für die 77 HSIL+-Fälle dargestellt.

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	Fehler	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (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: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$

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 Äquivalenz der beiden Methoden, selbst wenn LSIL als Fehler gegen einen Referenzwert von HSIL+ betrachtet wird.

Tabelle 12 zeigt die beschreibenden 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® Slide (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 genannte Infektionskategorie 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, Strahlung und dem Gebrauch von Intrauterinpeessaren sowie typische reparative Veränderungen mit squamösen, squamösen metaplastischen oder hochprismatischen Epithelzellen.

Bei insgesamt 8.807 Fällen wurden weder im Test- noch im Referenzzentrum „unzureichende“ Beurteilungen abgegeben. Bei zusätzlichen 239 Proben wurden vom Test- und/oder dem Referenzzentrum eines oder beide Präparate als „unzureichend“ bewertet. Von den 239 unzureichenden Fällen galten 151 auf nur herkömmlichen Objektträgern, 70 auf nur SurePath®-Objektträgern und 18 sowohl auf den herkömmlichen als auch auf den SurePath®-Objektträgern als unzureichend. Die unzureichenden Fälle wurden vom diagnostischen Vergleich durch Bethesda-System-Kategorien ausgeschlossen, wurden aber für den Vergleich der Adäquatheit 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: 9.046)	Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)		Herkömmlich präparierter Objektträger	
	N	%	N	%
Zufriedenstellend	7.607	84,1	6.468	71,5
Zufriedenstellend, aber eingeschränkt durch:	1.385	15,3	2.489	27,5
Fehlen des endozervikalen Anteils	1.283	14,2	1.118	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	1.018	11,3
Unzureichend 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 sind in mehr als einer Subkategorie vertreten.

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

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® Slide (Objektträger)	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: Ergebnis des McNemar-Tests $\chi^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$

SBLB: Ergebnis des McNemar-Tests $\chi^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		SAT	UNSAT	
Mit PrepStain® präparierter SurePath® Slide (Objektträger)	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Ergebnis des McNemar-Tests $\chi^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

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

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

Zentrum	Fälle	SurePath® SBLB ohne ECCs N (%)	Herkömmliche SBLB ohne 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)
Alle Zentren	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Der Nachweis von Endozervikalzellen (Tabelle 16) war in den verschiedenen Testzentren unterschiedlich. Insgesamt gab es beim Nachweis 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 unzureichende 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® SLIDE (OBJEKTTRÄGERN) MIT DER PREPMATE® METHODE 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. Die Veränderungen am zugelassenen Verfahren für die Präparation von SurePath®-Objektträgern werden im Folgenden beschrieben:

- Hinzufügen des PrepMate® accessory (Zusatzgeräts) (PrepMate® Methode), das die ersten manuellen Schritte des PrepStain® Laborverfahrens automatisiert. PrepMate® mischt und entnimmt die Probe automatisch aus den SurePath® Preservative Vials (Konservierungsgefäßen) und legt die Probe auf das PrepStain® Density Reagent (Dichtereagenz) in einem Teströhrchen.
- Hinzufügen der manuellen 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

In dieser Studie wurden mehr als 400 Fälle in einem maskierten Vergleich der zwei Alternativmethoden zu den gegenwärtig zugelassenen Verfahren zur Präparation der SurePath®-Objektträger bewertet. 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 bezeichnet) 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:

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

PREPMATE® ACCESSORY (ZUSATZGERÄT)

Das PrepMate® ist ein Zusatzgerät zum PrepStain® System, das zwei manuelle Schritte des PrepStain® Laborverfahrens automatisiert – Mischen und Auftragen der Probe. Das PrepMate® mischt die Probe gründlich, entnimmt sie exakt aus den SurePath® Preservative Vials (Konservierungsgefäßen) und legt die Probe auf das PrepStain® Density Reagent (Dichtereagenz) in einem Teströhrchen. Ein Probenhalter, der mit Probenflaschen, Spritzenpipetten und Teströhrchen (mit Dichtereagenz gefüllt) bestückt ist, wird auf das Tablett des Geräts gestellt. Der Probenhalter kann bis zu zwölf Flaschen, Röhrchen und Spritzenpipetten aufnehmen, die in drei Reihen zu je vier angeordnet sind. Flaschen,

Spritzenpipetten und Röhrchen sind Einwegartikel. Sie dürfen nur einmal gebraucht werden, um das Risiko einer Probenverunreinigung zu eliminieren.

MANUELLE METHODE

Bei der manuellen Methode wird ein manuelles Verfahren angewendet, um die Zellsuspension auf die Objektträger zu bringen und zu färben. Entnahme und Bearbeitung der gynäkologischen Probe verlaufen für die manuelle Methode und die zugelassene PrepStain® Methode gleich bis zu dem Punkt, an dem 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 SurePath® PreCoat slide (beschichteten 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	Objektträger
Insgesamt in der Studie eingetragen	471	1.413
Insgesamt von der Analyse ausgeschlossen	-68	-204
Unvollständige Unterlagen	-39	-117
Inkorrekte Präparation der Objektträger	-24	-72
Andere Gründe für den Ausschluss*	-5	-15
Insgesamt in der Analyse enthalten	403	1.209

* 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
Insgesamt	403

Tabelle 19 zeigt die gegenwärtigen klinischen Informationen und Tabelle 20 die Krankengeschichte aller Fälle der Studienpopulation. Bitte beachten Sie, 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
Intrauterinpeissar	2
Orales Verhütungsmittel/Implantat	20
Keine Familienplanung	181
Informationen nicht verfügbar	22

Tabelle 20 Krankengeschichte

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

* Beidseitige Eileiterunterbindung BTL
* Entzündliche Beckenerkrankung

STUDIENERGEBNISSE

Ziel der Studie war es zu zeigen, dass Ergebnisse der SurePath®-Objektträger, die mit der PrepMate® Methode und der manuellen Methode hergestellt wurden, im Vergleich zu den Ergebnissen derer, 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 denen vergleichbar, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden.

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

MORPHOLOGIE UND QUALITÄT DER PROBEN

In Tabelle 21 sind die Ergebnisse der Untersuchung der Hauptziele dargestellt. Die Akzeptanz der mit den einzelnen 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 Vertrauensintervall berechnet.

Tabelle 21 Vergleich von Verhältnissen und Vertrauensintervallen (CI) für die Akzeptanzkriterien

Präparationsmethode der Objektträger							
		PrepStain®		PrepMate®		Manuelle Methode	
		Verhältnis (n/N)	Exaktes 95%iges CI	Verhältnis (n/N)	Exaktes 95%iges CI	Verhältnis (n/N)	Exaktes 95%iges CI
Akzeptanzkriterien	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
	Zellularität	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 manuelle Methode sind beinahe immer gleich oder größer als die der PrepStain® Methode. Außerdem überdecken die exakten 95%igen Vertrauensintervalle der PrepMate® Methode und der manuellen Methode diejenigen der zugelassenen PrepStain® Methode für jedes Kriterium erheblich. 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 vergleichbar sind, die mit der zugelassenen PrepStain® Methode hergestellt wurden. 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.

Das erste Übereinstimmungsmaß ist der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen sowie die entsprechenden exakten 95%igen Vertrauensintervalle. Das zweite Übereinstimmungsmaß 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 sie allein zufallsmäßig zu erwarten wäre. Da die Beobachtungen geordnet sind, ist es wichtig, über Beobachtungen zu verfügen, 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 beträgt 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 Vertrauensintervallen von 0,8785 bis 0,9366.

Wenn unzureichende Objektträger von der Tabelle durch Löschen der ersten Reihe und der ersten Spalte ausgeschlossen werden, verbleiben noch 397 Objektträger. Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen beträgt 0,9194 (365/397) mit 95%igen Vertrauensgrenzen von 0,8881 bis 0,9442.

Die Ergebnisse in 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 weitaus größer war, als sie allein zufallsmäßig hätte entstehen können.

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

		Diagnose mit der PrepStain® Methode								
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA
Diagnose mit der PrepMate® Methode	Unsat	2	1	0	0	0	0	0	0	0
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0
	Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	0
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Insgesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1

VERGLEICH DER ZUGELASSENEN PREPSTAIN® METHODE UND DER MANUELLEN METHODE

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

Wenn unzureichende Objektträger von der Tabelle durch Löschen der ersten Reihe und der ersten Spalte ausgeschlossen werden, verbleiben noch 398 Objektträger. Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen beträgt 0,8794 (350/398) mit 95%igen Vertrauensgrenzen zwischen 0,8433 und 0,9097. Die Ergebnisse in Tabelle 23 zeigen, dass die zugelassene PrepStain® Methode und die manuelle 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 weitaus größer war, als sie allein zufallsmäßig hätte entstehen 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 manuellen Methode

		Diagnose mit der PrepStain® Methode								
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA
Diagnose mit der manuellen Methode	Unsat	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0
	Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	0
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0
	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	0	1
	Insgesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1

ADÄQUATHEIT DER OBJEKTTRÄGER

Die Adäquatheit der Objektträger 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 PrepStain® Methode mit der PrepMate® Methode dargestellt.

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

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

In Tabelle 25 werden die Ergebnisse der Adäquatheit des Vergleichs der zugelassenen PrepStain® Methode mit der manuellen Methode dargestellt.

Tabelle 25 Adäquatheit der Ergebnisse für die Objektträger der PrepStain® Methode und der manuellen Methode

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

In diesen zwei Vergleichen wurde gezeigt, dass sich die PrepMate® Methode und die manuelle Methode in Bezug auf die Adäquatheit der Objektträger 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 im Verwendungszweck vorgesehen mit Direct-to-vial-Proben verwendet wurde. In den vorher durchgeführten Studien wurde eine Split-Sample-Methode angewendet, bei der die Probe zuerst für die Präparation eines herkömmlichen Objektträgers für einen Pap-Abstrich verwendet wurde und der Rest der Probe in die SurePath® collection fluid (Sammelflüssigkeit) gegeben und mit dem PrepStain® System bearbeitet wurde, um einen SurePath®-Objektträger herzustellen. Es ist allgemein anerkannt, dass durch ein Split-Sample-Design die wahre Leistungsfähigkeit des Tests unterschätzt wird, da der Test mit dem verbliebenen Zellmaterial durchgeführt wird¹².

In dieser Studie wurde die Leistungsfähigkeit von SurePath®-Objektträgern, die aus Direct-to-vial-Proben hergestellt wurden, mit herkömmlichen Pap-Abstrichen verglichen. Die mit SurePath® ermittelten Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen von herkömmlichen Pap-Abstrichen aus einer historischen Kohorte verglichen. Speziell wurde in dieser Studie untersucht, ob SurePath®-Objektträger den Nachweis von hochgradigen squamösen intraepithelialen Läsionen (HSIL), Adenokarzinomen in situ und Krebs (HSIL+) verbesserten. Für beide Objektträgerpopulationen wurden alle zur Verfügung stehenden Biopsiematerialien gesammelt.

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

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

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten für die SurePath®-Objektträger eine Nachweisrate von 405/58.580 verglichen mit 248/58.988 für die herkömmlichen Objektträger, 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® slides (Objektträger) hin.

Tabelle 26 Vergleich der Nachweisraten nach Zentren

Zentrum	Herkömmlich			SurePath®		
	Insgesamt	HSIL+	Prozent (%)	Insgesamt	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	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Insgesamt	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Zentrum	Herkömmlich			SurePath®		
	Insgesamt	LSIL+	Prozent (%)	Insgesamt	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	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Insgesamt	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Zentrum	Herkömmlich			SurePath®		
	Insgesamt	ASCUS+	Prozent (%)	Insgesamt	ASCUS+	Prozent (%)
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
Insgesamt	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Unzureichend

Zentrum	Herkömmlich			SurePath®		
	Insgesamt	UNSAT+	Prozent (%)	Insgesamt	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	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Insgesamt	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

Hinweis: Variationen in der Leistung der unterschiedlichen Zentren sind zu erwarten. Jedes Labor muss die Qualität der eigenen Arbeit sorgfältig überprüfen.

VERFAHREN

Das vollständige Verfahren zur Präparation der SurePath®-Objektträger ist im Benutzerhandbuch des PrepStain® Systems angegeben.

BIBLIOGRAFIE

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NAME UND SITZ DES UNTERNEHMENS

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA

EC REP

Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Notice produit du système PrepStain®

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

APPLICATION

Le système PrepStain® est un procédé de préparation cellulaire liquide en couche mince. Le système PrepStain® produit des lames SurePath® destinées à remplacer les frottis Pap gynécologiques classiques. Les lames SurePath® sont conçues pour le dépistage et la détection du cancer du col de l'utérus, des lésions précancéreuses, des cellules atypiques et des autres catégories cytologiques définies par le document « Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses ».^{1,19}

Le SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) constitue un support de prélèvement et de transport adapté aux échantillons gynécologiques testés à l'aide des tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ et *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Pour plus d'instructions sur l'utilisation du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) à des fins de préparation des échantillons à utiliser avec ces tests, se reporter aux notices du test.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DE LA PROCÉDURE

Le système PrepStain® transforme la suspension liquide d'un échantillon de cellules cervicales en une fine couche cellulaire homogène, légèrement colorée, tout en maintenant les amas cellulaires pour le diagnostic.²⁻⁹ Ce procédé intègre la conservation des cellules, la randomisation, l'enrichissement du matériel diagnostique, le pipetage, la sédimentation, la coloration et le recouvrement par lamelle, de manière à créer une lame SurePath® adaptée au dépistage cytologique de routine et au classement, tel qu'il est défini par le système Bethesda.¹ La lame SurePath® offre une population bien conservée de cellules colorées dans un cercle de 13 mm de diamètre. Les artefacts générés par le séchage à l'air, masquant et recouvrant les amas cellulaires, ainsi que les débris sont en grande partie éliminés. Le nombre de granulocytes est nettement réduit, ce qui facilite la visualisation des cellules épithéliales, des cellules pertinentes du point de vue du diagnostic et des organismes infectieux.

Le processus SurePath® commence par un prélèvement d'échantillon gynécologique effectué par un personnel médical qualifié, à l'aide d'un dispositif de prélèvement de type balai (par ex., Cervex Brush®, Rovers Medical Devices B.V., Oss, Pays-Bas) ou d'une combinaison de brosse endocervicale/spatule en plastique (par ex., Cytobrush® Plus GT et spatule Pap Perfect®, Medscand (États-Unis) Inc., Trumbull, CT) à tête(s) amovible(s). Il n'est plus nécessaire d'étaler les cellules recueillies par les dispositifs de prélèvement sur une lame de verre : désormais, les têtes de ces dispositifs de prélèvement peuvent être détachées du manche pour être placées dans un flacon SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation).

Le flacon est rebouché, 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.

En laboratoire, l'échantillon conservé est mélangé au vortex* puis transféré dans le PrepStain® Density Reagent (réactif de densité). Une phase d'enrichissement, consistant en une sédimentation par centrifugation réalisée avec le réactif de densité, permet d'éliminer 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 PrepStain® Settling Chamber (chambre de décantation) montée sur une lame SurePath® PreCoat (sous-couche). Les cellules sédimentent par gravité. Elles sont ensuite colorées à l'aide d'un procédé de coloration Papanicolaou modifié. La lame est nettoyée avec du xylène, ou avec un substitut du xylène, puis recouverte d'une lamelle. Les cellules, présentes dans un cercle de 13 mm de diamètre, sont examinées au microscope par des cytologistes et des pathologistes qualifiés, ayant accès à d'autres informations pertinentes sur les antécédents médicaux de la patiente.

*Remarque : pour les tests complémentaires, une aliquote de 0,5 ml (maximum) peut être extraite après l'étape de mélange au vortex dans le cadre du processus de test SurePath® LBC.

LIMITES

- Les échantillons gynécologiques destinés aux préparations réalisées avec le système PrepStain®, doivent être prélevés à l'aide d'un dispositif de type balai ou d'un dispositif combiné constitué d'une brosse endocervicale/spatule en plastique à tête(s) amovible(s), conformément à la procédure de prélèvement standard indiquée par le fabricant. Les spatules en bois ne doivent pas être utilisées avec le système PrepStain®. Les dispositifs combinés de brosse endocervicale/spatule en plastique non amovibles ne doivent pas être utilisés avec le système PrepStain®.
- La production et l'évaluation des lames SurePath® ne peuvent être effectuées que par du personnel formé par des personnes autorisées. Les cytologistes et les pathologistes seront formés à l'évaluation morphologique sur les lames SurePath®. La formation inclura un examen des compétences. Les clients de laboratoire recevront des jeux de diapositives et de matériel d'essai à visée pédagogique. TriPath Imaging, Inc. participera également à la préparation des diapositives pédagogiques des populations patient propres à chaque client.
- Pour que le système PrepStain® offre des performances optimales, il convient d'utiliser uniquement les accessoires pris en charge ou recommandés par TriPath Imaging avec ce système. Les fournitures usagées doivent être mises au rebut correctement, conformément aux réglementations nationales en vigueur dans l'établissement.
- Toutes les fournitures sont à usage unique et ne peuvent pas être réutilisées.
- Un volume de 8,0 ± 0,5 ml d'échantillon prélevé dans le SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) est nécessaire pour le processus de test SurePath® LBC Test.

Réactifs



Utilisation diagnostique in vitro. Pour une utilisation en laboratoire uniquement.

Avertissements



Le SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) contient une solution aqueuse composée d'éthanol dénaturé. Le mélange contient de petites quantités de méthanol et d'isopropanol. Ne pas ingérer.



Le PrepStain® Density Reagent (réactif de densité) contient de l'acide de sodium. Ne pas ingérer. L'acide de sodium peut réagir avec les conduits en cuivre ou en plomb et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, rincer à grande eau pour éviter l'accumulation d'azides. Pour plus d'informations, se reporter à la publication DHHS (NIOSH) n° 78-127 Current 13, diffusée par les Centers for Disease Control. Consulter le site Web : www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Le mélange de coloration de cytologie PrepStain® EA/OG contient de l'alcool. Toxique en cas d'ingestion. Ne pas respirer les vapeurs. Utiliser dans un lieu correctement ventilé. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Hautement inflammable.

PRÉCAUTIONS

- Les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées et toutes les procédures d'utilisation 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 des performances optimales. La durée limite de stockage du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) à température ambiante (15 à 30 °C) sans échantillon cytologique peut atteindre 36 mois, à compter de la date de fabrication. La durée limite de stockage du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) avec des échantillons cytologiques est de 6 mois en réfrigérateur (2 à 10 °C) ou 4 semaines à température ambiante (15 à 30 °C). Le SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) avec échantillons cytologiques à utiliser avec les tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ CT Q⁺ et GC Q⁺ peut être conservé et transporté pendant 30 jours (maximum) à une température comprise entre 2 et 30 °C, avant son transfert dans les tubes de dilution des échantillons de cytologie à base liquide (LBC) pour les tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ Q⁺.
- Éviter les éclaboussures ou l'émission d'aérosols. Porter des gants, des lunettes et des vêtements de protection appropriés.
- L'efficacité antimicrobienne du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) a été testée et validée contre les bactéries suivantes : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* et *Aspergillus niger*. Les échantillons de SurePath® Preservative Fluid inoculés avec 10⁶ CFU/ml de chaque espèce ne présentent aucune évolution après 14 jours (28 jours dans le cas du *Mycobacterium tuberculosis*) d'incubation, dans des conditions normales. Il convient toutefois de toujours respecter les précautions universelles de manipulation des liquides biologiques.
- Le non-respect des procédures recommandées décrites dans le manuel de l'opérateur du système PrepStain® peut altérer les performances.

EXTRACTION FACULTATIVE DE L'ALIQUEOTE

- Le volume présent dans le SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) est suffisant pour permettre l'extraction de 0,5 ml de mélange homogène de cellules et de liquide à des fins de test complémentaire préalable au test Pap SurePath®, qui peut toujours être réalisé ensuite avec le volume restant.
- Même si rien n'indique que l'extraction d'une aliquote sur le SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) affecte la qualité de l'échantillon pour l'analyse cytologique, il arrive parfois que le matériel de diagnostic approprié soit égaré au cours du processus. Les personnels soignants doivent alors procéder à l'acquisition d'un nouvel échantillon si les résultats ne viennent pas corréler les antécédents cliniques de la patiente. En outre, la cytologie fournit des informations cliniques différentes de celles des tests des maladies sexuellement transmissibles (MST) ; par conséquent, le prélèvement d'une aliquote peut ne pas être adapté à toutes les situations cliniques. Si nécessaire, un échantillon distinct peut être prélevé à des fins de dépistage des MST, au lieu d'extraire une aliquote du SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation).
- Le prélèvement de l'aliquote sur des échantillons à faible cellularité risque de laisser un matériel biologique insuffisant pour la préparation d'un SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) adapté au test Pap SurePath®.
- L'aliquote doit être extraite avant le traitement du test Pap SurePath®. Une seule aliquote peut être prélevée dans le SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) avant de réaliser le test Pap, quel que soit le volume de l'aliquote.

Procédure

1. Afin de garantir l'homogénéité du mélange, il convient de vortexer le SurePath® Preservative Fluid Collection Vial pendant 10 à 20 secondes, et d'extraire l'aliquote dans la minute suivant le mélange au vortex.
2. Pour extraire l'aliquote, utiliser un embout de pipette avec barrière aérosol en polypropylène de taille adaptée au volume prélevé. *Remarque* : ne pas utiliser de pipettes sérologiques. Appliquer les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter toute contamination du SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) ou de l'aliquote. L'extraction de l'aliquote doit être réalisée dans un environnement adapté, en dehors de la zone d'amplification.
3. Inspecter visuellement les matériaux de l'aliquote dans la pipette afin de détecter toute présence de grosses particules en suspension ou de semi-solides. En présence de ces matériaux au cours de l'extraction de l'aliquote, reverser immédiatement tous les matériaux dans le flacon de l'échantillon et exclure l'échantillon des tests complémentaires préalables au test Pap.
4. Pour plus d'instructions sur le traitement de l'aliquote à l'aide des tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ CT Q⁺ et GC Q⁺, se reporter aux notices livrées par le fabricant du test.

MATÉRIEL REQUIS

Pour obtenir des informations complètes sur les réactifs, les composants et les accessoires, se reporter au manuel de l'opérateur du système PrepStain®. Certains des accessoires répertoriés ci-dessous ne sont pas requis pour la préparation manuelle (sans utiliser l'instrument PrepStain®) des lames SurePath®.

Matériel fourni

- Instrument PrepStain®
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) (avec SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation))
- Dispositif(s) de prélèvement d'échantillons cervicaux avec tête(s) amovible(s)
- PrepStain® Density Reagent (réactif de densité)
- PrepStain® Syringing Pipettes (pipettes)
- PrepStain® Settling Chamber (chambre de décantation)s
- Kit de coloration cytologique
- Lames SurePath® PreCoat (sous-couche)
- Tubes de centrifugation
- Portoirs de tubes et de lames
- Embouts d'aspiration et de transfert jetables

Matériel requis mais non fourni

- Agitateur vortex
- Eau désionisée (pH 7,5 à 8,5)
- Isopropanol et alcool de type réactif
- Agent de nettoyage, milieu de montage et lamelles de verre

Conservation

La durée limite de stockage du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) à température ambiante (15 à 30 °C) sans échantillon cytologique peut atteindre 36 mois, à compter de la date de fabrication.

La durée limite de stockage du SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) avec des échantillons cytologiques est de 6 mois en réfrigérateur (2 à 10 °C) ou 4 semaines à température ambiante (15 à 30 °C).

Le SurePath® Preservative Fluid (liquide de conservation) avec échantillons cytologiques à utiliser avec les tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ CT Q⁺ et GC Q⁺ peut être conservé et transporté pendant 30 jours (maximum) à une température comprise entre 2 et 30 °C, avant son transfert dans les tubes de dilution des échantillons de cytologie à base liquide (LBC) pour les tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ Q⁺.

INTERPRÉTATION DU DIAGNOSTIC ET ADÉQUATION 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 définis par le système Bethesda actuellement utilisés dans les laboratoires de cytologie pour les frottis Pap classiques sont applicables aux lames SurePath®.¹ Les nouvelles recommandations du Bethesda 2001 Reporting System concernent les préparations à base liquide et indiquent comment déterminer une cellularité adéquate spécialement pour ces préparations.

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

- (1) Nombre insuffisant de cellules de diagnostic (inférieur à 5 000 cellules épithéliales squameuses par préparation). Les procédures suivantes sont recommandées pour la numération des cellules épithéliales squameuses bien préservées sur les lames SurePath® :
 - pour chaque modèle de microscope utilisé lors du dépistage, respecter le manuel du fabricant ou contacter le fabricant du microscope afin de déterminer la surface du champ de vision obtenu à l'aide des oculaires sélectionnés et d'un objectif de 40x. Il est également possible de calculer la surface du champ à l'aide d'un hémocytomètre ou d'une échelle similaire de mesure des lames pour microscope (surface du champ = πr^2 où r correspond au rayon du champ).

Le nombre moyen minimum de cellules sur un champ visualisé avec un objectif de 40x doit être déterminé en divisant la surface de dépôt des cellules d'environ 130 mm² sur la lame SurePath® par la surface du champ spécifique au microscope. Le nombre obtenu est ensuite divisé par le minimum de 5 000 cellules. Ce nombre correspond au nombre adéquat moyen minimum recommandé pour les cellules épithéliales, avec un champ de vision obtenu avec un objectif 40x. Enregistrer ce nombre et le conserver pour le fournir au cytologiste à titre de référence. Les directives Bethesda 2001 indiquent le nombre approximatif de cellules par champ pour une préparation de 13 mm.

- Un minimum de dix champs doit être décompté 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 vérifier l'adéquation des séquences de production de la préparation. Cependant, rien ne remplace l'évaluation microscopique primaire, réalisée par un cytologiste au cours du processus de dépistage.

- (2) Au moins 75 % des composants cellulaires sont masqués par une inflammation, du sang, des bactéries, des mucosités ou des artefacts qui empêchent l'interprétation cytologique de la lame.

Toute observation anormale ou suspecte doit être signalée à un pathologiste à des fins d'examen et de diagnostic. Le pathologiste doit relever toute modification morphologique cellulaire importante sur le plan diagnostique.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE : RAPPORT D'ÉTUDES CLINIQUES

PREMIÈRE ÉTUDE SUR ÉCHANTILLON FRACTIONNÉ

TriPath Imaging a mené une étude clinique prospective, en aveugle, sur échantillons fractionnés, par paires, sur plusieurs sites, afin de comparer les résultats diagnostiques des lames SurePath® produites par le système PrepStain® avec les frottis Pap à préparation classique. Cette étude avait pour objectif d'évaluer l'efficacité des lames SurePath® par rapport au frottis Pap classique dans la détection du cancer du col de l'utérus, des lésions précancéreuses et des cellules atypiques, chez diverses populations de patientes et dans des environnements de laboratoire différents. L'adéquation des deux types de préparations a également été évaluée.

Conformément aux recommandations de la FDA dans le document « Points to Consider » pour les dispositifs de cytologie cervicale¹⁰, chaque frottis Pap classique a été préparé en premier. Le résidu d'échantillon disponible sur le dispositif de prélèvement de type balai a ensuite été déposé dans un SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation).

Une fois transportée au laboratoire, chaque suspension cellulaire conservée a été analysée selon le protocole du système PrepStain®. La lame SurePath® alors obtenue et la lame de frottis Pap classique correspondante ont été analysées manuellement et des diagnostics indépendants ont été établis sur la base de catégories de diagnostics conformes au système Bethesda. Sur chaque site, un pathologiste a évalué toutes les lames normales.

En accord avec la méthode décrite par Shatzkin¹¹, cette étude a fait appel à un pathologiste de référence indépendant, travaillant sur un site de référence désigné. Ce pathologiste a revu, en aveugle, tous les cas anormaux et discordants, ainsi que les cas avec réparation cellulaire et 5 % des cas normaux provenant de tous les sites, afin d'établir une « vérité » diagnostique pour chaque cas.

CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTES

Les femmes participant à l'étude étaient âgées de 16 à 87 ans, 772 d'entre elles étant ménopausées. Sur les 8 807 patientes de cette étude, 1 059 présentaient des antécédents de frottis Pap anormaux. La population de patientes étudiée était composée des groupes ethniques suivants : caucasien (44 %), noir (30 %), asiatique (12 %), hispanique (10 %), américain natif (3 %) et autre (1 %).

Ont été exclues les patientes dont les documents d'accompagnement étaient inexacts, les patientes de moins de 16 ans, les patientes ayant subi des hystérectomies et les échantillons insatisfaisants et inappropriés sur le plan cytologique. Un effort a été fourni afin d'inclure autant de cas de cancer du col de l'utérus et de maladies précancéreuses que possible, en accédant à des patientes redirigées, ayant passé peu de tests de dépistage et à haut risque.

Sur l'ensemble des 10 335 cas, 9 046 ont été acceptés et évalués sur huit sites d'étude différents. Sur ces 9 046 cas, 8 807 ont satisfait aux critères d'adéquation de la préparation fixés par le système Bethesda et ont pu faire l'objet d'un diagnostic complet pour les deux préparations.

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Cette étude clinique avait pour objectif de comparer l'efficacité des lames SurePath® produites par le système PrepStain® avec celle des frottis Pap à préparation classique. Les lames ayant subi ces deux types de préparation ont été classées selon les critères du système Bethesda. Le protocole d'étude a été biaisé en faveur du frottis Pap classique parce qu'un frottis Pap classique était toujours préparé en premier. Les lames SurePath® ont donc été préparées avec le matériel résiduel restant sur le dispositif de type balai (la partie de l'échantillon qui aurait normalement dû être jetée).¹² L'analyse SurePath® est destinée à une application directe en flacon, où toutes les cellules prélevées sont disponibles pour le système PrepStain®.

Afin de comparer les sensibilités des lames SurePath® et des lames de frottis Pap classique en cas de lecture manuelle, le niveau d'anomalie des cas a été déterminé par le pathologiste de référence et comparé avec les diagnostics réalisés par les sites d'étude. Le diagnostic de référence a été basé sur le diagnostic le plus anormal de préparation de lame réalisé par le pathologiste de référence indépendant. Ce résultat a été utilisé comme « vérité » diagnostique ou valeur de référence afin de comparer les résultats obtenus par les différents sites qui ont utilisé le système PrepStain® pour préparer les lames SurePath®, avec les résultats fournis par les frottis Pap à préparation classique. L'hypothèse nulle selon laquelle les sensibilités des deux méthodes de préparation des lames sont identiques a été soumise au test du Chi-deux de McNemar pour les données appariées.¹³ Dans le cadre de cette analyse statistique, les résultats divergents des deux méthodes de préparation ont été comparés.

Le tableau 1 établit une comparaison directe des résultats de tous les sites entre les lames SurePath® et les lames classiques pour les catégories de diagnostic suivantes : WNL (dans les limites de la normalité), ASC-US/AG-US (cellules malpighiennes atypiques de signification indéterminée/anomalie des cellules glandulaires de signification indéterminée), LSIL (lésion intra-épithéliale de bas grade), HSIL (lésion intra-épithéliale de haut grade) et CA (cancer).

Tableau 1 Première étude en échantillon fractionné : 8 807 échantillons appariés – Comparaison des résultats des sites – Pas de pathologiste de référence

Résultats par site								
N° du site	Type de lame	WNL	ASC-US	AG-US	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 = Classique

Le tableau 2 établit une comparaison directe entre les résultats de tous les sites ayant utilisé la méthode de préparation SurePath® et ceux de la préparation classique des frottis Pap pour toutes les catégories de traitement diagnostique.

Tableau 2 Première étude en échantillon fractionné : 8 807 échantillons appariés – Comparaison des résultats de tous les sites – Pas de pathologiste de référence

Frottis Pap préparés de façon classique								
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®		WNL	ASC-US	AG-US	LSIL	HSIL	CA	Total
	WNL	7 290	361	20	63	24	1	7 759
	ASC-US	343	101	4	44	15	2	509
	AG-US	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 obtenu par le pathologiste de référence indépendant n'est indiqué dans le tableau 1 ou le tableau 2.

Tableau 3 Première étude en échantillon fractionné : comparaison des résultats de tous les sites pour les cas désignés par la méthode de référence comme appartenant à la catégorie ASC-US/AG-US – Analyse d'erreur discordante

Lame à préparation classique				
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite		Erreur	
	Réussite	113	205	318
		180	229	409
	293		434	727

Réussite = ASC-US/AG-US
Erreur = WNL et modification réactionnelle/réparatrice

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 1,62$; $p = 0,2026$
Erreurs sur les lames classiques : 205
Erreurs sur les lames SurePath® : 180

Le tableau 3 indique les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie ACS-US ou AG-US. Cette évaluation permet d'analyser les erreurs de discordance afin de déterminer la sensibilité des méthodes dans le cadre d'une étude en échantillon fractionné. Les erreurs incluent la catégorie WNL et les modifications réactionnelles/réparatrices. Étant donné que la valeur p déterminée par le test McNemar dépasse 0,05, les résultats des lames SurePath® et des lames de frottis Pap classique étaient équivalents.

Tableau 4 Première étude en échantillon fractionné : comparaison des résultats de tous les sites pour les cas désignés par la méthode de référence comme LSIL – Analyse d'erreur discordante

Lame à préparation classique				
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite		Erreur	
	Réussite	140	63	203
		54	86	140
	194		149	343

Réussite = LSIL
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice et ASC-US/AG-US

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 0,69$; $p = 0,4054$
Erreurs sur les lames classiques : 63
Erreurs sur les lames SurePath® : 54

Le tableau 4 indique les résultats des cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie LSIL. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US. Comme avec les catégories ASC-US/AG-US, la sensibilité des deux méthodes dans le cadre de l'étude en échantillon fractionné était statistiquement équivalente avec une valeur p supérieure à 0,05.

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

Lame à préparation classique				
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite		Erreur	
	Réussite	160	28	188
		36	38	74
	196		66	262

Réussite = HSIL+
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice et ASC-US/AG-US

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 1,00$; $p = 0,3173$
Erreurs sur les lames classiques : 28
Erreurs sur les lames SurePath® : 36

Le tableau 5 indique les résultats pour les cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie HSIL+. Dans cette comparaison, la catégorie LSIL n'était pas considérée comme une erreur mais plutôt comme une divergence.^{10,14,15} Les erreurs incluent les catégories WNL, modifications réactionnelles/réparatrices et ASC-US/AG-US. L'analyse de la sensibilité des erreurs de discordance a permis de montrer l'équivalence statistique des méthodes dans le cadre de l'étude en échantillon fractionné.

Tableau 6 Première étude en échantillon fractionné : analyse des erreurs de discordance dans les cas de cancer (la catégorie HSIL n'est pas considérée comme une erreur ; la catégorie LSIL est considérée comme une erreur)

		Lame à préparation classique		
		Réussite	Erreur	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite	19	2	21
	Erreur	5	1	6
		24	3	27

Réussite = Cancer

Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice, ASC-US/AG-US et LSIL

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 1,645$; $p = 0,1980$

Erreurs sur les lames classiques : 2

Erreurs sur les lames SurePath® : 5

Le tableau 6 indique les résultats (pour tous les sites) pour les cas considérés comme des cancers selon la méthode de référence. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US et LSIL. L'analyse de la sensibilité des erreurs de discordance a permis de montrer l'équivalence statistique des méthodes. Ces 27 cas de cancer ont été inclus dans l'étude de réévaluation. Ces données sont disponibles dans le tableau 9.

Tableau 7 Première étude en échantillon fractionné : comparaison des résultats de tous les sites pour les cas désignés par la méthode de référence comme HSIL+ – Analyse d'erreur de discordance (la catégorie LSIL est considérée comme une erreur dans cette analyse)

		Lame à préparation classique		
		Réussite	Erreur	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite	94	33	127
	Erreur	67	68	135
		161	101	262

Réussite = (HSIL+)

Erreur = WNL, modifications réactionnelles/réparatrices, ASCUS/AGUS et LSIL

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 11,56$; $p = 0,0007$

Erreurs sur les lames classiques : 33

Erreurs sur les lames SurePath® : 67

Le tableau 7 indique les résultats pour les cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie HSIL+. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US et LSIL. Bien qu'elle ne soit pas cohérente avec le protocole d'étude initial¹⁰, une comparaison statistique des méthodes a été réalisée lorsque la catégorie LSIL était considérée comme une erreur diagnostique par rapport à un cas désigné par le pathologiste de référence indépendant comme appartenant à la catégorie HSIL+. Dans le cadre de cette comparaison statistique des sensibilités diagnostiques, lorsque LSIL était considérée comme une erreur, et non comme une divergence mineure, les lames SurePath® préparées par le système PrepStain® n'étaient pas équivalentes aux frottis Pap préparés de façon classique pour la détection des anomalies de type HSIL+ dans le cadre de l'étude en échantillon fractionné.

RÉÉVALUATION EN AVEUGLE DES CAS DE TYPE HSIL+

Une nouvelle évaluation a été menée afin de déterminer si les résultats avaient été affectés par la qualité de la préparation ou la subjectivité de l'interprétation. Pour pouvoir évaluer les 262 cas diagnostiqués HSIL+ dans le cadre de l'étude initiale (tableau 7), une évaluation supplémentaire a été menée à la suite de la mise en place d'un nouveau programme de formation à l'intention des professionnels de la cytologie. Ce programme a pour objectif de mettre l'accent sur la cohérence des interprétations entre les différents groupes de diagnostics du système Bethesda. Ces cas de HSIL+ ont été de nouveau masqués dans le cadre de cette réévaluation qui a porté sur un total de 2 438 échantillons, sur la base du même protocole d'échantillon fractionné. Les résultats des sites participant à l'étude pour les deux types de préparation ont été comparés à une nouvelle valeur de référence qui a nécessité qu'au moins deux des trois pathologistes de référence s'accordent sur le diagnostic cytologique le plus anormal.

Dans le procédé de référence pour la réévaluation, les deux types de préparation de lames des cas discordants (lames SurePath® préparées avec le système PrepStain® et lames préparées de façon classique) ont été ré-analysés par un second cytologiste et les anomalies nouvellement identifiées ont été ajoutées à celles détectées au cours du dépistage initial. Trois cytopathologistes de référence ont ensuite évalué les cas discordants en suivant un protocole en aveugle. Cette méthode de référence plus restrictive a permis de diminuer le nombre de cas référencés HSIL+, qui est alors passé de 262 (dans l'étude initiale) à 209 (dans la réévaluation). La différence de 53 cas s'explique comme suit : 48 cas ont été diagnostiqués LSIL ou moins par la méthode de référence la plus restrictive ; 3 des cas ont été jugés insatisfaisants pendant la réévaluation et les 2 cas restants n'étaient pas disponibles pour l'évaluation dans le cadre de l'étude de réévaluation en aveugle.

Tableau 8 Étude de réévaluation : analyse des erreurs de discordance pour les 209 cas HSIL+ initiaux réévalués selon les critères de référence les plus stricts, impliquant la participation de trois pathologistes de référence indépendants

		Lame à préparation classique		
		Réussite	Erreur	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite	153	26	179
	Erreur	24	6	30
		177	32	209

Réussite = HSIL+

Erreur = WNL, modifications réactionnelles/réparatrices, ASCUS/AGUS et LSIL

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 0,02$; $p = 0,8875$

Erreurs sur les lames classiques : 26

Erreurs sur les lames SurePath® : 24

Le tableau 8 indique les résultats pour les cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie HSIL+. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US et LSIL. Dans le cadre de cette comparaison, la catégorie LSIL a été considérée comme une erreur diagnostique par rapport à un cas désigné par le pathologiste de référence indépendant comme appartenant à la catégorie HSIL+. La comparaison des sensibilités diagnostiques a permis de mettre en évidence une équivalence statistique entre les deux méthodes.

Tableau 9 Étude de réévaluation : analyse des erreurs de discordance dans les cas de cancer (la catégorie HSIL n'est pas considérée comme une erreur ; la catégorie LSIL est considérée comme une erreur)

		Lame à préparation classique		
		Réussite	Erreur	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite	32	3	35
	Erreur	3	0	3
		35	3	38

Réussite = Cancer

Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice, ASC-US/AG-US et LSIL

Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$

Erreurs sur les lames classiques : 3

Erreurs sur les lames SurePath® : 3

Le tableau 9 indique les résultats des cas considérés comme des cancers selon la nouvelle méthode de référence (sur tous les sites). Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US et LSIL. Une erreur a découlé d'une interprétation LSIL. Toutes les autres erreurs provenaient de lames désignées comme appartenant à la catégorie ASC-US/AG-US ou WNL. L'analyse de la sensibilité des erreurs de discordance a permis de montrer l'équivalence statistique des méthodes.

La réévaluation en aveugle comportait 2 097 nouveaux cas utilisés afin de remettre en aveugle les échantillons HSIL+ initiaux. L'analyse et la comparaison des préparations de ces nouveaux cas sont indiquées dans le tableau 10.

Tableau 10 Étude de réévaluation : comparaison de 2 097 résultats directs des sites – Pas de pathologiste de référence

		Frottis Pap préparés de façon classique						
		WNL	ASC-US	AG-US	LSIL	HSIL	CA	Total
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	WNL	1 561	128	0	47	30	0	1 766
	ASC-US	80	37	1	6	8	1	133
	AG-US	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

Parmi les 2 097 nouveaux cas décrits ci-dessus, 77 ont été diagnostiqués par les pathologistes de référence comme appartenant à la catégorie HSIL+. Le tableau 11 présente l'analyse des sensibilités de ces 77 cas HSIL+.

Tableau 11 Étude de réévaluation : comparaison des résultats de tous les sites pour les cas désignés par la méthode de référence comme HSIL+ – Analyse d’erreur de discordance (la catégorie LSIL est considérée comme une erreur dans cette analyse)

		Lame à préparation classique		
		Réussite	Erreur	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	Réussite	25	21	46
	Erreur	21	10	31
		46	31	77

Réussite = HSIL+
Erreur = WNL, modifications réactionnelles/réparatrices, ASCUS/AGUS et LSIL
Résultat du test de McNemar : $X^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$
Erreurs sur les lames classiques : 21
Erreurs sur les lames SurePath® : 21

L’analyse des erreurs de discordance du tableau 11 fait état d’un nombre égal de cas HSIL+ manqués pour les deux méthodes de préparation. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASC-US/AG-US et LSIL. L’analyse statistique a mis en évidence une équivalence entre les deux méthodes dans l’étude en échantillon fractionné, même lorsque la catégorie LSIL est considérée comme une erreur par rapport à la valeur de référence de HSIL+.

Le tableau 12 récapitule les diagnostics décrivant des résultats bénins pour tous les sites.

Tableau 12 Première étude en échantillon fractionné : récapitulatif des modifications cellulaires bénignes

Diagnostic descriptif (Nb de patients : 8 807)	Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®		Lame à préparation classique	
	N	%	N	%
Modifications cellulaires bénignes *Infection :				
Espèce <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
Espèce <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Bactérie (autre)	52	0,6	191	2,2
**Modifications réparatrices réactives	424	4,8	319	3,6

* Les observations des agents infectieux ont été rapportées pour la catégorie Infection ci-dessus. Chaque cas peut présenter plusieurs catégories d’organismes.
** Les modifications réactives réparatrices incluent les modifications réactives associées à une inflammation, à une vaginite atrophique, à une irradiation et à l’utilisation d’un stérilet, ainsi que les réparations typiques avec cellules squameuses, cellules squameuses métaplasiques ou cellules épithéliales prismatiques.

8 807 cas ont été classés « insatisfaisants » par les sites d’étude ou le site de référence. 239 autres échantillons ont été désignés « insatisfaisants » par les sites d’étude et/ou le site de référence, pour l’une et/ou l’autre des préparations. Sur les 239 cas insatisfaisants, 151 ont été relevés sur les lames classiques uniquement, 70 sur les lames SurePath® uniquement et 18 sur les lames classiques et sur les lames SurePath®. Tous les cas insatisfaisants ont été exclus de la comparaison de diagnostic réalisée sur la base des catégories du système Bethesda. Ils ont cependant été rajoutés lors de la comparaison de l’adéquation des préparations.

Les tableaux 13 à 16 indiquent les résultats d’adéquation des préparations pour tous les sites.

Tableau 13 Première étude en échantillon fractionné : résultats d’adéquation des préparations

Adéquation des préparations (nb de patients ; 9 046)	Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®		Lame à préparation classique	
	N	%	N	%
Satisfaisante	7 607	84,1	6 468	71,5
Satisfaisante mais limitée par les éléments suivants :	1 385	15,3	2 489	27,5
Absence de composants endocervicaux	1 283	14,2	1 118	12,4
Artefact de séchage à l’air	0	0	17	0,2
Épaisseur du frottis	1	< 0,1	0	0
Opacification par le sang	53	0,6	121	1,3
Obscurcissement par une inflammation	102	1,1	310	3,4
Rareté des cellules épithéliales squameuses	4	< 0,1	7	0,1
Cytolyse	10	0,1	11	0,1
Absence d’antécédents cliniques	0	0	0	0
Non précisé	60	0,7	1 018	11,3
Insatisfaisante pour l’évaluation :	54	0,6	89	1,0
Absence de composants endocervicaux	42	0,5	42	0,5
Artefact de séchage à l’air	0	0	0	0
Épaisseur du frottis	0	0	2	< 0,1
Opacification par le sang	7	0,1	6	0,1
Opacification par une inflammation	6	0,1	6	0,1
Rareté des cellules épithéliales squameuses	6	0,1	0	0
Cytolyse	0	0	1	< 0,1
Absence d’antécédents cliniques	0	0	0	0
Non précisé	37	0,4	32	0,5

Remarque : les échantillons de certaines patientes appartenaient à plusieurs sous-catégories.

D’autres cas insatisfaisants ont été détectés par le pathologiste de référence. Le nombre total de résultats insatisfaisants est indiqué dans le tableau 15. Dans ce tableau, SAT = satisfaisant, SBLB = satisfaisant mais limité par (certaines conditions spécifiques) et INSAT = insatisfaisant.

Tableau 14 Première étude en échantillon fractionné : récapitulatif des résultats d’adéquation des préparations pour tous les sites d’étude clinique

		Lame à préparation classique			
		SAT	SBLB	INSAT	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	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 : Résultat du test de McNemar $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$
SBLB : Résultat du test de McNemar $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

Le tableau 14 indique les résultats de la comparaison de l’adéquation des préparations selon les deux méthodes. Les lames SurePath® présentaient considérablement moins de cas insatisfaisants et SBLB que les lames classiques.

Tableau 15 Première étude en échantillon fractionné : comparaison entre les résultats insatisfaisants obtenus sur les sites d'étude clinique et ceux obtenus sur le site de référence

		Lame à préparation classique		
		SAT	INSAT	
Système PrepStain® utilisé pour la préparation des lames SurePath®	SAT	8 807	151	8 958
	INSAT	70	18	88
		8 877	169	9 046

Résultat du test de McNemar $\chi^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

Le tableau 15 illustre les résultats de la comparaison entre les résultats satisfaisants et insatisfaisants obtenus sur les sites d'étude clinique et ceux obtenus sur le site de référence. Les lames SurePath® montrent une diminution nette des cas insatisfaisants, comparées aux lames classiques.

Tableau 16 Résultats de l'adéquation des préparations par site : taux de SBLB sans composants endocervicaux (CEC)

Site	Cas	Lames SBLB sans CEC N (%)	Lames classiques SBLB sans 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)

La détection des cellules endocervicales (tableau 16) varie entre les différents sites d'étude. On note cependant une différence globale de 1,8 % dans la détection des cellules endocervicales entre les frottis Pap classiques et les lames SurePath®. Ce résultat est similaire aux études précédentes menées en échantillon fractionné.^{16,17}

Les lames SurePath® produites par le système PrepStain® ont fourni des résultats comparables à ceux des frottis Pap classiques dans le cadre de comparaisons en échantillon fractionné, sur tout un éventail de populations de patientes et dans différents environnements de laboratoire. En outre, les lames SurePath® ont présenté considérablement moins de cas insatisfaisants et SBLB que les frottis Pap classiques. Les lames SurePath® peuvent donc être utilisées à la place des frottis Pap classiques pour la détection des cellules atypiques, des lésions précancéreuses, des cancers du col de l'utérus et de toutes les autres catégories cytologiques définies par le système Bethesda.

ÉVALUATION DE LA PRÉPARATION DES LAMES SUREPATH® À L'AIDE DE LA MÉTHODE PREPMATE® ET DES MÉTHODES MANUELLES

TriPath Imaging a mené une étude clinique prospective multicentrique visant à évaluer deux modifications apportées à la procédure de préparation des lames SurePath® homologuée par la FDA. Ces modifications sont les suivantes :

- ajout de l'accessoire PrepMate® (méthode PrepMate®) qui automatise les étapes manuelles initiales du procédé de laboratoire PrepStain®. PrepMate® mélange et retire automatiquement l'échantillon présent dans le SurePath® Preservative Vial (flacon de conservateur), et étale l'échantillon sur le PrepStain® Density Reagent (réactif de densité), dans un tube à essai ;
- ajout de la méthode manuelle SurePath® qui n'utilise plus l'instrument PrepStain® pour la suspension des cellules et la coloration des lames, mais étale manuellement la suspension cellulaire sur la lame, qui est alors colorée par un technicien de laboratoire.

Cette étude a permis d'évaluer plus de 400 cas dans le cadre d'une comparaison en aveugle réalisée entre les deux méthodes alternatives et la procédure actuellement homologuée pour la préparation des lames SurePath®. La comparaison s'est basée sur des critères morphologiques et qualitatifs, appliqués aux lames préparées selon chaque méthode.

Les principaux objectifs de cette étude étaient :

- d'évaluer les aspects morphologiques et qualitatifs des lames SurePath® préparées selon la méthode PrepMate®, par rapport aux lames préparées selon la méthode homologuée avec le système PrepStain® (dénommée méthode PrepStain®) ;
- d'évaluer les aspects morphologiques et qualitatifs des lames SurePath® préparées selon la méthode manuelle, par rapport aux lames préparées selon la méthode homologuée PrepStain®.

Les autres objectifs de cette étude étaient :

- de déterminer si le niveau de concordance entre la méthode PrepStain® homologuée et la méthode PrepMate® est supérieur à ce que le hasard seul peut permettre d'obtenir ;
- de déterminer si le niveau de concordance entre la méthode PrepStain® homologuée et la méthode manuelle est supérieur à ce que le hasard seul peut permettre d'obtenir ;
- d'évaluer l'adéquation des échantillons, déterminée selon les standards du système PrepStain®, pour préparer les lames SurePath® à l'aide de la méthode PrepMate® ;
- d'évaluer l'adéquation des échantillons, déterminée selon les standards du système PrepStain®, pour préparer les lames SurePath® à l'aide de la méthode manuelle.

ACCESSOIRE PREPMATE®

PrepMate® est un accessoire du système PrepStain® qui automatise deux étapes manuelles (le mélange et l'étalement) du procédé de laboratoire PrepStain®. PrepMate® mélange vigoureusement et retire avec précision l'échantillon présent dans le SurePath® Preservative Vial (flacon de conservateur), et étale l'échantillon sur le PrepStain® Density Reagent (réactif de densité), dans un tube à essai. Un portoir préalablement chargé avec les flacons des échantillons, les pipettes et les tubes à essai (contenant le liquide de densité) est placé sur le plateau de l'instrument. Le portoir peut contenir jusqu'à douze flacons, tubes et pipettes, disposés sur trois rangées de quatre. Les flacons, les pipettes et les tubes sont à usage unique. Ils ne doivent être utilisés qu'une seule fois afin d'éliminer les risques de contamination des échantillons.

MÉTHODE MANUELLE

La méthode manuelle SurePath® utilise une procédure manuelle pour étaler la suspension cellulaire sur les lames et pour colorer la préparation. Les prélèvements et l'analyse des échantillons gynécologiques sont identiques pour les deux méthodes, manuelle et PrepStain® homologuée, jusqu'au moment où l'instrument PrepStain® est utilisé.

Avec la méthode PrepStain®, les culots cellulaires centrifugés sont placés directement sur l'instrument PrepStain® afin d'y être traités automatiquement pour produire des lames SurePath® colorées.

Avec la méthode manuelle, de l'eau désionisée est ajoutée au culot cellulaire centrifugé. Cette opération est suivie d'un mélange au vortex permettant de remettre en suspension et de randomiser l'échantillon. L'échantillon est transféré dans une chambre de décantation montée sur une lame SurePath® PreCoat (sous-couche). Une fois l'échantillon déposé sur la lame, il est coloré suivant la procédure de coloration en lot de Papanicolaou.

DÉCOMPTE DES LAMES

Le tableau 17 fournit un décompte des lames utilisées pour l'étude clinique. Il est important de noter que le kit d'étude est constitué de **trois lames par cas**.

Tableau 17 Décompte des lames

	Cas	Lames
Nombre total sélectionné pour l'étude	471	1 413
Nombre total exclu de l'analyse	-68	-204
Documentation incomplète	-39	-117
Lames mal préparées	-24	-72
Autres motifs d'exclusion*	-5	-15
Nombre total inclus dans l'analyse	403	1 209

* Échantillons manquants, numéros de patientes en double, etc.

DONNÉES DÉMOGRAPHIQUES

Le tableau 18 répertorie les données relatives à l'âge des patientes, pour tous les cas inclus dans la population étudiée.

Tableau 18 Données démographiques

Âge	Nombre de cas
19 ou moins	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

Le tableau 19 répertorie les informations cliniques actuelles et le tableau 20 fournit les antécédents cliniques de tous les cas inclus dans la population étudiée. Noter qu'il a été possible de sélectionner plus d'un élément. Le décompte total de cas risque donc de ne pas correspondre au nombre total de cas dans la population étudiée.

Tableau 19 Informations cliniques actuelles

Informations cliniques	Nombre de cas
Femme réglée	241
Cycle irrégulier	69
Hystérectomie	16
Femme enceinte	9
Femme ayant subi un avortement	0
Femme venant d'accoucher	9
Femme post-ménopausée	58
Femme préménopausée	1
Femme immuno-déprimée	0
Présentation gynécologique anormale	0
Pertes vaginales	137
Œstrogénothérapie de substitution	19
Stérilet	2
Contraceptifs oraux/implant	20
Femme sans contraception	181
Informations non disponibles	22

Tableau 20 Antécédents cliniques

Antécédents	Nombre de cas
Antécédents de cytologie anormale	13
Antécédents de saignements anormaux	36
Biopsie	3
Antécédents de cancer	1
Chimiothérapie	0
Rayons	0
Colposcopie	9
VIH/SIDA	0
Papillomavirus humain	0
Herpès	1
Antécédents de LBT*	1
Antécédents de PID**	57
Aucun antécédent relevé	363

* Ligature bilatérale des trompes

* Infection génitale haute

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Cette étude a pour objectif d'établir que les lames SurePath® préparées selon la méthode PrepMate® et les procédures de la méthode manuelle offrent une comparaison favorable par rapport à celles préparées selon la méthode PrepStain® homologuée. Les données cliniques montrent que les lames préparées selon la méthode PrepMate® et les méthodes manuelles sont comparables sur les plans morphologiques et qualitatifs à celles préparées selon la méthode homologuée PrepStain®.

Les données cliniques montrent également que les performances diagnostiques de la méthode PrepMate® et des méthodes manuelles sont identiques à celles de la méthode homologuée PrepStain®. En outre, l'adéquation des lames préparées selon la méthode PrepMate® et les méthodes manuelles ne diffère pas de celle des lames préparées selon la méthode homologuée PrepStain®. Ces résultats viennent étayer l'hypothèse selon laquelle la méthode PrepMate® et les méthodes manuelles sont comparables à la méthode homologuée PrepStain®.

MORPHOLOGIE ET QUALITÉ DES ÉCHANTILLONS

Le tableau 21 présente les résultats des principaux objectifs : les possibilités d'acceptation des lames préparées selon chaque méthode ont été évaluées en fonction des critères morphologiques et qualitatifs indiqués dans le tableau. Pour chaque critère, la proportion de lames acceptables a été calculée selon un intervalle exact de confiance de 95 %.

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

Méthode de préparation des lames							
Critères d'acceptation		PrepStain®		PrepMate®		Méthode manuelle	
		Taux (n/N)	IC exact à 95 %	Taux (n/N)	IC exact à 95 %	Taux (n/N)	IC exact à 95 %
	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
	Nucléarité	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
	Amas	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'acceptation de la méthode PrepMate® et de la méthode manuelle sont presque toujours supérieurs ou égaux à ceux de la méthode PrepStain®. En outre, les intervalles de confiance de 95 % de la méthode PrepMate® et des méthodes manuelles dépassent nettement ceux de la méthode homologuée PrepStain®, pour chaque critère. Ainsi, les données cliniques montrent que les lames préparées selon la méthode PrepMate® et les méthodes manuelles sont comparables sur les plans morphologiques et qualitatifs à celles préparées selon la méthode homologuée PrepStain®. Par conséquent, la qualité de la préparation est la même pour la méthode homologuée que pour les deux méthodes testées.

CONCORDANCE DES DIAGNOSTICS

Cette analyse compare les diagnostics réalisés sur les lames préparées selon chaque méthode. Étant donné que ces données sont dérivées d'échantillons fractionnés, les matrices de diagnostic présentées dans les tableaux 22 et 23 sont basées sur des échantillons appariés préparés selon chaque méthode de préparation des lames (PrepMate® et méthode manuelle), alors comparée à la méthode homologuée PrepStain®. Idéalement, le diagnostic obtenu sur les lames préparées par les deux méthodes doit être identique. C'est ce que représente le nombre de lames avec des diagnostics identiques, qui apparaissent sur la principale diagonale de chaque tableau.

La première mesure de concordance réside dans la proportion de lames sur la diagonale principale et les intervalles de confiance exacts de 95 % correspondants. La deuxième mesure de concordance est obtenue grâce à la statistique Kappa, calculée pour chaque comparaison et testée. Le test détermine si le niveau de concordance entre les deux méthodes est supérieur à ce que le hasard seul peut permettre d'obtenir. Les observations étant classées, il est plus important qu'elles longent ou qu'elles soient proches de la principale diagonale. La statistique Kappa pondérée accorde davantage de poids aux observations longeant ou proches de la principale diagonale de tous les tableaux.

COMPARAISON DE LA MÉTHODE PREPSTAIN® HOMOLOGUÉE ET DES MÉTHODES PREPMATE®

Dans le tableau 22, le nombre de lames sur la principale diagonale est de 367 (2+334+8+6+5+11+1) et la proportion de lames sur la principale diagonale est de 0,9107 (367/403), dans des limites de confiance à 95 % de 0,8785 à 0,9366.

Si les lames insatisfaisantes sont exclues du tableau par suppression de la première ligne et de la première colonne, il reste 397 lames. La proportion de lames sur la principale diagonale est de 0,9194 (365/397), dans des limites de confiance à 95 % de 0,8881 à 0,9442.

Les résultats répertoriés dans le tableau 22 montrent que la méthode homologuée PrepStain® et la méthode PrepMate® offrent une proportion élevée de lames avec une concordance de diagnostic, comme l'indique la proportion de lames sur la principale diagonale du tableau. En outre, l'analyse Kappa pondérée souligne que la concordance est bien supérieure à ce que le hasard seul peut permettre.

Tableau 22 Recouplement des diagnostics établis par la méthode PrepStain® et les méthodes PrepMate®

Diagnostic établi selon la méthode PrepStain®										
Diagnostic établi selon la méthode PrepMate®	Insat.	WNL	BCC-RR	Atypique	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
	Insat.	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
	Atypique	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
Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARAISON DE LA MÉTHODE PREPSTAIN® HOMOLOGUÉE ET DES MÉTHODES MANUELLES

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

Si les lames insatisfaisantes sont exclues du tableau par suppression de la première ligne et de la première colonne, il reste 398 lames. La proportion de lames sur la principale diagonale est de 0,8794 (350/398), dans des limites de confiance à 95 % de 0,8433 à 0,9097. Les résultats répertoriés dans le tableau 23 montrent que la méthode homologuée PrepStain® et la méthode manuelle offrent une proportion élevée de lames avec une concordance de diagnostic, comme l'indique la proportion de lames sur la principale diagonale du tableau. En outre, l'analyse Kappa pondérée souligne que la concordance est bien supérieure à ce que le hasard seul peut permettre. Par conséquent, les performances diagnostiques sont les mêmes pour la méthode homologuée que pour les deux méthodes testées.

Tableau 23 Recouplement des diagnostics établis par la méthode PrepStain® et les méthodes manuelles

Diagnostic établi selon la méthode PrepStain®											
		Insat.	WNL	BCC-RR	Atypique	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnostic établi par la méthode manuelle	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
	Atypique	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

ADÉQUATION DES LAMES

L'adéquation des lames a été évaluée pour chaque méthode de préparation. Les données ont été analysées à l'aide d'un test bilatéral de McNemar.¹⁸

Le tableau 24 fournit les résultats d'adéquation en cas de comparaison de la méthode homologuée PrepStain® avec la méthode PrepMate®.

Tableau 24 Résultats d'adéquation pour les lames PrepMate® et PrepStain®

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

Le tableau 25 fournit les résultats d'adéquation en cas de comparaison de la méthode homologuée PrepStain® avec la méthode manuelle.

Tableau 25 Résultats d'adéquation pour les lames PrepStain® et manuelles

Résultat de la méthode PrepStain®				
Résultat obtenu par la méthode manuelle	SAT ou SBLB	INSAT		
	398	2	400	
	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 matière d'adéquation des lames.

ÉTUDE AVEC DILUTION IMMÉDIATE

Suite à l'agrément initial accordé par la FDA au système PrepStain®, TriPath Imaging a mené une vaste étude multicentrique sur le système PrepStain® lorsqu'il est utilisé comme prévu avec les échantillons avec dilution immédiate. Les précédentes études cliniques utilisaient une méthode en échantillon fractionné dans lesquelles l'échantillon était d'abord utilisé pour créer une lame de frottis Pap classique, et le reste de l'échantillon était placé dans du liquide de prélèvement SurePath®, puis traité à l'aide du système PrepStain® afin de créer une lame SurePath®. Il est démontré que les études en échantillon fractionné sous-estiment les performances réelles des analyses préparées à partir de matériaux cellulaires résiduels¹².

Cette étude a comparé les performances des lames SurePath® produites à partir d'échantillons soumis à une dilution immédiate, avec celles des frottis Pap classiques. Les résultats obtenus par les lames SurePath® ont été comparés à ceux d'une cohorte historique de frottis Pap classiques. Cette étude a plus spécifiquement déterminé si les lames SurePath® améliorent la détection des lésions intra-épithéliales squameuses de haut grade (HSIL), des adénocarcinomes in situ et des cancers (HSIL+). Toutes les données de biopsie disponibles ont été recueillies au sein des deux populations de lames.

La population SurePath® était composée de 58 580 lames recueillies de manière prospective auprès de 57 cliniques qui étaient passées quasiment à 100 % des prélèvements de frottis Pap classiques aux prélèvements d'échantillons SurePath®. Les échantillons recueillis auprès de ces cliniques ont été envoyés à trois sites cliniques pour y être traités.

La population classique était constituée de 58 988 lames provenant des mêmes cliniques que les lames SurePath®. Cette population historique a été recueillie en commençant par les lames les plus récentes créées avant le passage de ces cliniques à SurePath®, puis en revenant dans le temps, jusqu'à ce que les populations de lames classiques et de lames SurePath® sur chaque site clinique soient quasiment équivalentes en nombre.

Les résultats de cette étude ont permis de mettre en évidence un taux de détection de 405/58 580 pour les lames SurePath®, contre 248/58 988 pour les lames classiques, avec des taux de détection respectifs de 0,691 % et 0,420 % (voir le tableau 26). Pour ces sites cliniques et ces populations étudiées, ceci représente une augmentation de 64,4 % (p<0,00001) dans la détection des lésions HSIL+ grâce aux lames SurePath®.

Tableau 26 Comparaison des taux de détection par site

Site	Lame classique			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

Site	Lame classique			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

Site	Lame classique			SurePath®		
	Total	ASC-US+	Pourcentage (%)	Total	ASC-US+	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

Site	Lame classique			SurePath®		
	Total	INSAT+	Pourcentage (%)	Total	INSAT+	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 : des variations d'efficacité d'un site à l'autre sont attendues. Chaque laboratoire doit soigneusement surveiller la qualité de son travail.

PROCÉDURE

Les procédures complètes de préparation des lames SurePath® sont indiquées dans le manuel de l'opérateur du système PrepStain®.

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, 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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NOM ET SIÈGE

TriPath Imaging, Inc.

780, Plantation Drive

Burlington, NC 27215 É.-U.



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Tous droits réservés.

Folleto del sistema PrepStain® System

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

USO PREVISTO

El sistema PrepStain® System es un proceso de preparación de una capa fina de células basada en líquido. PrepStain® System produce SurePath® slides (portaobjetos) que se utilizan como sustitutos de extensiones ginecológicas de Papanicolaou convencionales. Los SurePath® slides (portaobjetos) se utilizan en el estudio y detección de cáncer cervical, 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}.

El SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) es un medio de transporte y recogida adecuado para muestras ginecológicas probadas con el BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado). Consulte los folletos de la caja del análisis para obtener instrucciones sobre el uso del SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) para preparar muestras para su uso con estos análisis.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

El sistema PrepStain® System convierte una suspensión líquida de una muestra de células cervicales en una capa fina, homogénea y ligeramente teñida de células, conservando al mismo tiempo agrupamientos de células de diagnóstico²⁻⁹. El proceso incluye la conservación de las células, la randomización, la potenciación del material de diagnóstico, el pipeteado, la sedimentación, la tinción y el cubrimiento para crear un portaobjetos SurePath® slide para utilizar en pruebas citológicas rutinarias y su clasificación según The Bethesda System¹. El SurePath® slide (portaobjetos) presenta una población de células teñidas bien conservadas dentro de un círculo de 13 mm de diámetro. Se eliminan en gran medida artefactos de secado por aire, material celular que solapa u oculta el material de diagnóstico y detritos. La cantidad de leucocitos se reduce significativamente, facilitando así la visualización de células epiteliales, células de importancia diagnóstica y organismos infecciosos.

El proceso de SurePath® comienza con la recogida de una muestra ginecológica por parte de personal médico cualificado a través de un dispositivo de muestreo de tipo escobilla (p. ej., Cervex Brush®, Rovers Medical Devices B.V., Oss - Países Bajos) o una combinación de espátula de plástico/cepillo endocervical (p. ej., Cytobrush® Plus GT y espátula Pap Perfect®, Medscand (EE.UU.) Inc., Trumbull, CT) con cabezal(es) desmontable(s). En lugar de extender las células recogidas con los dispositivos de muestreo sobre un portaobjetos de vidrio, los cabezales de los dispositivos de muestreo se desprenden del asa y se colocan en un vial de SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante). El vial se tapa, se etiqueta y se envía, junto con la documentación correspondiente, al laboratorio para su procesamiento. Los cabezales de los dispositivos de muestreo nunca se retiran del vial conservante que contiene la muestra recogida.

En el laboratorio, la muestra conservada se mezcla con vórtex* y se transfiere a una probeta que contiene un PrepStain® Density Reagent (reactivo de densidad). Un paso de potenciación, que consiste en la sedimentación centrífuga a través de un reactivo de densidad, 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 una PrepStain® Settling Chamber (cámara de sedimentación) montada en un SurePath® PreCoat Slide (portaobjetos prerrevestido). Las células se sedimentan por gravedad y después se tiñen mediante un procedimiento de tinción de Papanicolaou modificado. El portaobjetos se limpia con xileno o con un sustituto de xileno y se cubre. Las células, presentadas dentro de un círculo de 13 mm de diámetro, son examinadas a través de un microscopio por citotécnicos y patólogos cualificados con acceso a otros datos relevantes del historial del paciente.

* Nota: Para las pruebas complementarias, puede retirarse una parte alícuota de hasta 0,5 mL después de este paso de mezcla con vórtex en el proceso de prueba SurePath® LBC Test.

LIMITACIONES

- Las muestras ginecológicas para preparaciones con el sistema PrepStain® System deberán recogerse con un dispositivo de muestreo de tipo escobilla o con una combinación de espátula de plástico/cepillo endocervical con cabezal(es) desmontable(s) según el procedimiento de recogida estándar proporcionado por el fabricante. Con el sistema PrepStain® System, no deberán utilizarse espátulas de madera. Tampoco deberán utilizarse combinaciones de espátula de plástico/cepillo endocervical que no sean desmontables.
- La formación impartida por personal autorizado constituye un requisito previo para la producción y evaluación de SurePath® slide (portaobjetos). Los citotécnicos y patólogos habrán sido instruidos en la evaluación morfológica con los SurePath® slide (portaobjetos). La formación incluirá un examen de aptitud. Los laboratorios cliente recibirán juegos de pruebas y portaobjetos para su formación. TriPath Imaging, Inc. también ayudará a preparar portaobjetos de formación con las propias poblaciones de pacientes de cada cliente.
- Para que el PrepStain® System funcione correctamente, sólo deberán utilizarse los productos admitidos o recomendados por TriPath Imaging para su uso con el PrepStain® System. Los productos utilizados deberán desecharse correctamente de acuerdo con las normas locales.
- Todos los productos son de un solo uso y no podrán ser reutilizados.
- Es necesario un volumen de 8,0 ± 0,5 mL de la muestra recogida en el SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) para el proceso de prueba SurePath® LBC Test.

Reactivos



Para uso diagnóstico in vitro. Sólo para uso en laboratorio.

Advertencias



El SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) contiene una solución acuosa de etanol desnaturalizado. La mezcla contiene pequeñas cantidades de metanol e isopropanol. No ingerir.



El PrepStain® Density Reagent (reactivo de densidad) contiene azida sódica. No ingerir. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Cuando la deseché, deje correr agua abundante para evitar la acumulación de azida. Para obtener más información, consulte el documento DHHS (NIOSH) N° 78-127 Current 13, publicado por Centers for Disease Control. Visite el sitio Web: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



El PrepStain® EA/OG combination cytology stain (tinte combinado de citología) contiene alcohol. Tóxico si se ingiere. No inhalar los vapores. Utilizar con una ventilación adecuada. Evitar el contacto con la piel y los ojos. Altamente inflamable.

PRECAUCIONES

- Deberán seguirse buenas prácticas de laboratorio y cumplirse estrictamente todos los procedimientos de uso del sistema PrepStain® System.
- Los reactivos deberán guardarse a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) y utilizarse antes de su fecha de caducidad para garantizar unos resultados adecuados. El límite de conservación del SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) sin muestras citológicas es de 36 meses desde la fecha de fabricación a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C). El límite de conservación del SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) con muestras citológicas es de 6 meses a temperaturas de refrigeración (de 2 a 10 °C) o de 4 semanas a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C). El SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) con muestra citológica para su uso con los BD ProbeTec™ CT Q⁺ y GC Q⁺ Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado) se pueden almacenar y transportar durante un máximo de 30 días a 2 – 30 °C antes de transferirlo a los tubos de dilución de muestras de citología basadas en líquido (LBC) para los BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.
- Evite salpicaduras o la formación de aerosoles. Los usuarios deberán utilizar un material de protección adecuado para las manos, los ojos y la ropa.
- El SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) es bactericida 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 (líquido conservante) 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. No obstante, deberán tomarse en todo momento las precauciones universales para la manipulación segura de fluidos biológicos.
- Si no se siguen los procedimientos recomendados descritos en el manual del usuario del PrepStain® System, podría verse afectado el rendimiento del sistema.

RETIRADA OPCIONAL DE ALÍCUOTA

- Se dispone de volumen suficiente en el SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) para retirar hasta 0,5 mL de mezcla homogénea de células y fluido para las pruebas complementarias antes de realizar la prueba de SurePath® Pap Test (prueba de Papanicolaou), dejando suficiente volumen para realizar dicha prueba.
- Aunque no existen pruebas de que la retirada de una parte alícuota del SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) afecte a la calidad de la muestra para la prueba citológica, pueden producirse en raras ocasiones casos de asignaciones erróneas del material de diagnóstico pertinente durante este proceso. Puede que sea necesario que los sanitarios adquieran una nueva muestra si los resultados no están correlacionados con el historial clínico del paciente. Además, la citología responde a cuestiones clínicas diferentes a las pruebas de enfermedades de transmisión sexual (ETS); por lo tanto, la retirada de una parte alícuota puede que no esté indicada para todas las situaciones clínicas. Si fuera necesario, puede recogerse una muestra diferente para la prueba de ETS en lugar de tomar una parte alícuota del SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante).
- La retirada de una parte alícuota de muestras con bajo nivel de celularidad puede dejar material insuficiente en el SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) para la preparación de una prueba de SurePath® Pap test (prueba de Papanicolaou) satisfactoria.
- La parte alícuota debe retirarse antes de procesar la prueba SurePath® Pap Test (prueba de Papanicolaou). Sólo puede retirarse una parte alícuota del SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) antes de realizar la prueba de Papanicolaou, independientemente del volumen de la parte alícuota.

Procedimiento

1. Para garantizar una mezcla homogénea, el SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) debe mezclarse con vórtex durante 10 a 20 segundos y la parte alícuota de 0,5 mL debe retirarse en el plazo de un minuto tras la mezcla con vórtex.
2. Para la retirada de la parte alícuota deberá utilizarse una punta de pipeta de polipropileno resistente a aerosoles con el tamaño adecuado para el volumen que se esté retirando. *Nota:* No deberán utilizarse pipetas serológicas. Deberán seguirse las buenas prácticas del laboratorio para evitar la introducción de contaminantes en el SurePath® Preservative Fluid collection vial (vial de recogida con líquido conservante) o la parte alícuota. La retirada de la parte alícuota debe realizarse en una ubicación adecuada, fuera del área en la que se realice la amplificación.
3. Compruebe visualmente el material de la parte alícuota en la pipeta por si existieran partículas de gran tamaño o semisólidas. Si existe dicho material a la hora de retirar la parte alícuota, deberá devolverse todo el material al vial de muestra y descartar la muestra para las pruebas complementarias antes de realizar la prueba de Papanicolaou.
4. Para obtener instrucciones sobre el procesamiento de la parte alícuota con el análisis BD ProbeTec™ CT Q⁺ y GC Q⁺ Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado), consulte los folletos de la caja suministrados por el fabricante del análisis.

MATERIALES NECESARIOS

Consulte el manual del usuario del PrepStain® System para obtener más información sobre los reactivos, componentes y accesorios. No todos los materiales que figuran a continuación son necesarios para la preparación manual de SurePath® slides (portaobjetos) (sin usar el PrepStain® instrument (instrumento)).

Materiales suministrados

- PrepStain® Instrument (instrumento)
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) (incluye SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante))
- Dispositivo(s) de muestreo cervical con cabezal(es) desmontables
- PrepStain® Density Reagent (reactivo de densidad)
- PrepStain® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar)
- PrepStain® Settling Chambers (cámaras de sedimentación)
- Kit de tintes citológicos
- SurePath® PreCoat slides (portaobjetos prerrevestidos)
- Tubos de centrifugado
- Gradillas de tubos y portaobjetos
- Puntas de aspirador y transferencia desechables

Materiales necesarios pero no suministrados

- Mezclador vórtex
- Agua desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol y alcohol reactivo
- Agente de limpieza, medios de montaje y cubreobjetos de vidrio

Conservación

El límite de conservación del SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) sin muestras citológicas es de 36 meses desde la fecha de fabricación a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C).

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

El SurePath® Preservative Fluid (líquido conservante) con muestra citológica para su uso con los BD ProbeTec™ CT Q⁺ y GC Q⁺ Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado) se pueden almacenar y transportar durante un máximo de 30 días a 2 – 30 °C antes de transferirlo a los tubos de dilución de muestras de citología basadas en líquido (LBC) para los BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.

INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO E IDONEIDAD DE LA PREPARACIÓN

Una vez finalizada la formación del usuario autorizado por TriPath Imaging sobre el PrepStain® System y los SurePath® slides (portaobjetos), deberán aplicarse a los SurePath® slides (portaobjetos) los criterios de diagnóstico citológico de The Bethesda System actualmente utilizados en laboratorios citológicos para extensiones de Papanicolaou convencionales¹. Las nuevas directrices recomendadas en el sistema de notificación Bethesda 2001 se refieren a las preparaciones basadas en líquido y establecen la forma de determinar la celularidad adecuada específicamente para estas preparaciones.

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

- (1) Un número insuficiente de células de diagnóstico (menos de 5.000 células epiteliales escamosas por preparación). A continuación, se indican los procedimientos recomendados para calcular el número de células epiteliales escamosas bien conservadas en los portaobjetos SurePath® slides (portaobjetos):

- Para cada modelo de microscopio utilizado en el análisis, consulte el manual del fabricante del microscopio o póngase en contacto con el mismo para determinar el área del campo de visión que obtendrá con la lente elegida y el objetivo de 40x. También puede calcular el área del campo con un hemocitómetro o una escala de medición de portaobjetos similar (área de campo = πr^2 donde r es el radio del campo).

El promedio mínimo de células que caben en el campo de un objetivo de 40x se determina dividiendo el área ocupada por las células (130 mm² aproximadamente) en el SurePath® slide (portaobjetos) por el área del campo del microscopio utilizado. A continuación, se divide el resultado por el valor mínimo de 5.000 células. El número resultante será el promedio idóneo mínimo recomendado de células epiteliales que deberá haber en un campo de visión de un objetivo de 40x. Anote este número y guárdelo para consultas rutinarias por parte del citotécnico. Directrices del sistema Bethesda 2001 que indican la cantidad aproximada de células por campo para una preparación de 13 mm.

- Deberán contabilizarse un mínimo de diez campos horizontal y verticalmente a lo largo del centro del diámetro de la preparación.
 - Como medio práctico para evaluar el contenido celular, puede utilizarse una evaluación 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 llevada a cabo por el citotécnico durante el proceso de detección.
- (2) El 75% o más de los componentes celulares están oscurecidos por inflamaciones, sangre, bacterias, mucosidades o artefactos que impiden la interpretación citológica del portaobjetos.

Cualquier resultado anormal o dudoso deberá remitirse a un patólogo para que proceda a su estudio y diagnóstico. El patólogo deberá anotar cualquier alteración morfológica celular que revista importancia diagnóstica.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: INFORME DE ESTUDIOS CLÍNICOS

PRIMER ESTUDIO DE MUESTRAS DIVIDIDAS

TriPath Imaging llevó a cabo un estudio clínico ciego prospectivo con muestras divididas y emparejadas en varios centros con el fin de comparar los resultados diagnósticos de SurePath® slides (portaobjetos) producidos por el PrepStain® System con extensiones de Papanicolaou preparadas de manera convencional. Este estudio tenía como objetivo evaluar el rendimiento de SurePath® en comparación con las extensiones de Papanicolaou convencionales, para la detección de cáncer cervical, lesiones precursoras y células atípicas en diversas 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 en relación a los dispositivos para citología cervical¹⁰, después de preparar cada extensión de Papanicolaou, la muestra residual que quedaba en el dispositivo de muestreo de tipo escobilla se depositó en un SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante).

Tras su transporte al laboratorio, cada suspensión celular conservada fue procesada según el protocolo del PrepStain® System. El SurePath® slide (portaobjetos) resultante y el portaobjetos con la extensión de Papanicolaou convencional fueron analizados manualmente y diagnosticados de forma independiente empleando clasificaciones de diagnóstico coherentes con The Bethesda System. En cada centro, un patólogo evaluó todos los portaobjetos anormales.

Siguiendo el método descrito por Shatzkin¹¹, en este estudio, un patólogo de referencia independiente de un centro de referencia designado revisó todos los casos anormales o 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 de cada caso.

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Las edades de las mujeres que participaron en el estudio oscilaban entre los 16 y los 87 años, con 772 de ellas en edad postmenopáusica. De las 8.807 pacientes representadas en el estudio, 1.059 presentaban un historial de extensiones anteriores de Papanicolaou anormales. La población total sometida al estudio estaba compuesta por los siguientes grupos étnicos: caucásico (44%), negro (30%), asiático (12%), hispano (10%), indígena norteamericano (3%) y otros grupos (1%).

Se excluyeron del estudio los casos con documentación incorrecta, pacientes menores de 16 años, pacientes con histerectomía y muestras citológicamente inadecuadas y no satisfactorias. Se intentó incluir el máximo número posible de casos con cáncer cervical y enfermedades precursoras, buscando pacientes de alto riesgo, pacientes que no se habían sometido a revisiones frecuentes y pacientes remitidas por otros centros.

De un total de 10.335 casos, 9.046 fueron aceptados y evaluados en ocho centros diferentes. De estos 9.046 casos, 8.807 cumplían 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 por objetivo comparar el rendimiento de los SurePath® slides (portaobjetos) producidos con el PrepStain® System con el de las extensiones de Papanicolau preparadas de manera convencional. Los portaobjetos de ambos tipos de preparación se clasificaron según los criterios de The Bethesda System. El protocolo del estudio se inclinó a favor de la extensión de Papanicolau convencional, debido a que esta muestra siempre se preparaba en primer lugar, limitando así los SurePath® slides (portaobjetos) al material residual que quedaba en el dispositivo de tipo escobilla (la parte de la muestra que normalmente se hubiera eliminado).¹² El uso previsto de la prueba SurePath® es una aplicación de tipo “directo al vial” en la que el PrepStain® System podrá utilizar todas las células obtenidas.

Para poder comparar la sensibilidad de los SurePath® slides (portaobjetos) y de aquéllos preparados con el método de Papanicolau convencional, cuando son leídos manualmente, el patólogo de referencia determinó el grado de anormalidad de los casos y los comparó con los diagnósticos realizados 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 de referencia independiente. Este resultado se utilizó como diagnóstico de “verdad” o valor de referencia para comparar los resultados de los centros utilizando la preparación de SurePath® slides (portaobjetos) por parte del PrepStain® System frente a la preparación de extensiones de Papanicolau convencional. La hipótesis nula de que la sensibilidad de ambos métodos de preparación de portaobjetos es equivalente fue probada mediante la prueba de McNemar para datos emparejados¹³. En esta prueba estadística, se compararon los resultados discrepantes de los dos métodos de preparación.

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

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

Resultados por centro								
Nº de centro	Gradillas	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

En la tabla 2, se muestra una comparación directa de los resultados obtenidos en todos los centros con el método de preparación SurePath® frente a la preparación de extensiones de Papanicolau convencionales para todas las categorías de diagnóstico.

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

		Extensión de Papanicolau preparada de forma convencional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
SurePath® slide preparado con 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

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

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

		Portaobjetos preparado de forma convencional	
		Éxito	Error
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	113	205
	Error	180	229
		293	434

Éxito = ASCUS/AGUS
Error = WNL y Reactivo/Reparativo

Resultado de la prueba de McNemar: X²mc = 1,62, p = 0,2026
Errores con el método convencional: 205
Errores con SurePath®: 180

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

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

		Portaobjetos preparado de forma convencional	
		Éxito	Error
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	140	63
	Error	54	86
		194	149

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

Resultado de la prueba de McNemar: X²mc = 0,69, p = 0,4054
Errores con el método convencional: 63
Errores con SurePath®: 54

En la tabla 4, se muestran los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como LSIL. Entre los errores se 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 de muestras divididas: Comparación de los resultados de todos los centros para casos designados por el método de referencia como HSIL+
Análisis de errores discrepantes (LSIL no es un error)

		Portaobjetos preparado de forma convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	160	28	188
	Error	36	38	74
		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

En la tabla 5, se muestran 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}. Entre los errores se 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 de muestras divididas: Análisis de errores discrepantes para casos de cáncer (HSIL no es un error; LSIL se considera un error)

		Portaobjetos preparado de forma convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	19	2	21
	Error	5	1	6
		24	3	27

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

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 1,645, p = 0,1980$
Errores con el método convencional: 2
Errores con SurePath®: 5

En la tabla 6, se muestran los resultados (de todos los centros) de los casos determinados como cáncer por el método de referencia. Entre los errores se 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 se incluyeron en el estudio de reevaluación. Estos datos aparecen en la tabla 9.

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

		Portaobjetos preparado de forma convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	94	33	127
	Error	67	68	135
		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

En la tabla 7, se muestran los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como HSIL+. Entre los errores se incluyen 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 un error de diagnóstico frente a un caso determinado como HSIL+ por el único patólogo de referencia independiente. En esta comparación estadística de sensibilidades de diagnóstico, cuando LSIL se considera como error en contraposición a una ligera discrepancia, los SurePath® slides (portaobjetos) preparados con el PrepStain® System no serán equivalentes a las extensiones de Papanicolaou preparadas con los métodos convencionales, para la detección de anomalías de HSIL+ en el estudio de muestras divididas.

REEVALUACIÓN CIEGA DE CASOS DE HSIL+

Se llevó a cabo una nueva evaluación para determinar si los resultados se habían visto 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 destinado a 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 el acuerdo de al menos dos patólogos de referencia independientes de un total de tres 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 (SurePath® slides (portaobjetos) preparados con el PrepStain® System y portaobjetos preparados de manera convencional) fueron estudiadas de nuevo por un segundo citotécnico, detectándose nuevas anomalías aparte de las que ya habían sido detectadas en el estudio inicial. Todos los casos discrepantes fueron evaluados por tres citopatólogos de referencia a través de un protocolo ciego. Este método de referencia más estricto redujo 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 manera:

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 los criterios de referencia más estrictos, con la participación de tres patólogos de referencia independientes

		Portaobjetos preparado de forma convencional		
		Éxito	Error	
SurePath® slide preparado con PrepStain®	Éxito	153	26	179
	Error	24	6	30
		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

En la tabla 8, se muestran los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como HSIL+. Entre los errores se incluyen WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. En esta comparación, el único patólogo de referencia independiente consideró LSIL como un error de diagnóstico frente a un caso determinado como HSIL+. La comparación de las sensibilidades del diagnóstico mostró una equivalencia estadística entre los dos 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)

		Portaobjetos preparado de forma 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, ASCUS/AGUS y LSIL

Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00, p = 1,0000$
Errores con el método convencional: 3
Errores con SurePath®: 3

En la tabla 9, se muestran los resultados de los casos determinados como cáncer por el nuevo método de referencia (todos los centros). Entre los errores se 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 los 2.097 resultados obtenidos en cada centro — Sin patólogo de referencia

Extensión de Papanicolau preparada de forma 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 anteriormente descritos, 77 fueron diagnosticados con HSIL+ por los patólogos de referencia. En la tabla 11, se muestra el análisis de sensibilidad de los 77 casos con HSIL+.

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

Portaobjetos preparado de forma 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 mostró el mismo número de omisiones de HSIL+ con ambos métodos de preparación. Entre los errores se incluyen 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+.

En la tabla 12, se muestra un resumen de los diagnósticos descriptivos de hallazgos benignos en todos los centros.

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

Diagnósticos descriptivos (n° de pacientes: 8.807)	SurePath® slide preparado con PrepStain®		Portaobjetos preparado de forma 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
Especies de <i>Actinomyces</i>	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 notifica la observación de agentes infecciosos. Es posible que cada caso represente más de una clase de organismo.

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

En un total de 8.807 casos no se obtuvo ninguna evaluación “no satisfactoria” ni en los centros donde se realizaron los estudios ni 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 centros, en una u otra preparación, o en ambas. De los 239 casos no satisfactorios, sólo se observaron 151 en portaobjetos convencionales; 70, en SurePath® slides (portaobjetos); y 18, en 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.

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

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

Idoneidad de las preparaciones (n° de pacientes: 9.046)	SurePath® slide preparado con PrepStain®		Portaobjetos preparado de forma 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
Citólisis	10	0,1	11	0,1
Sin historial clínico	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
Citólisis	0	0	1	< 0,1
Sin historial clínico	0	0	0	0
Sin especificar	37	0,4	32	0,5

Nota: Algunos 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 (alguna de las condiciones especificadas) y UNSAT = No satisfactorio.

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

		Portaobjetos preparado de forma 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: $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$
SBLB: Resultado de la prueba de McNemar: $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

En la tabla 14, se muestran 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 SurePath® slides (portaobjetos) en comparación con los portaobjetos convencionales.

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

		Portaobjetos preparado de forma 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: $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

En la tabla 15, se 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 SurePath® slides (portaobjetos) muestran una reducción estadísticamente importante de casos no satisfactorios en comparación con los portaobjetos 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 ECCs N (%)	SBLB con el método 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) varió 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 Papanicolau convencional y el método SurePath®, que resulta similar a los estudios anteriores realizados con el método de células divididas^{16,17}.

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

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

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

- Incorporación del PrepMate® accessory (accesorio) (PrepMate® method (método)), que automatiza los pasos manuales iniciales del proceso de laboratorio del PrepStain®. El PrepMate® mezcla y retira automáticamente la muestra de los SurePath® Preservative Vials (viales con conservante) y la deposita en PrepStain® Density Reagent (reactivo de densidad) en una probeta.
- Incorporación del método manual, en el cual, en lugar de utilizar el PrepStain® instrument (instrumento) para la suspensión de las células y la tinción del portaobjetos, la suspensión se deposita manualmente sobre el 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 aprobado actualmente para la preparación de SurePath® slides (portaobjetos). La comparación se basó en los criterios morfológicos y de calidad aplicados a los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos.

Objetivos principales del estudio:

- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los SurePath® slides (portaobjetos) preparados con el método PrepMate®, en comparación con los portaobjetos preparados con el método aprobado consistente en utilizar el PrepStain® System (conocido como método PrepStain®).
- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los SurePath® slides (portaobjetos) preparados con el método manual, en comparación con los portaobjetos preparados con el método aprobado PrepStain®.

Otros objetivos del estudio:

- Determinar si el grado de concordancia entre el método PrepStain® aprobado y el método PrepMate® era superior a lo que cabría esperar.
- Determinar si el grado de concordancia entre el método PrepStain® aprobado y el Manual Method (método manual) era superior a lo que cabría esperar.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del PrepStain® System para la preparación de los SurePath® slides (portaobjetos) con el método PrepMate®.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del PrepStain® System para la preparación de los SurePath® slides (portaobjetos) con el método manual.

PREPMATE® ACCESSORY (accesorio)

PrepMate® es un accesorio para el PrepStain® System (sistema) que automatiza dos pasos manuales: la muestra y la extensión de la muestra en el proceso de laboratorio del PrepStain®. El PrepMate® mezcla minuciosamente y retira con precisión la muestra de los SurePath® Preservative Vials (viales con conservante) y la deposita en PrepStain® Density Reagent (reactivo de densidad) en una probeta. Se coloca una gradilla de viales con muestras, pipetas para dispensar y probetas (con fluido de densidad) en la bandeja del instrumento. La gradilla admite hasta doce viales, probetas y pipetas para dispensar en tres filas de cuatro unidades. Los viales, las pipetas para dispensar y las probetas son desechables y deberán utilizarse una única vez para evitar la posibilidad de contaminación de las muestras.

MANUAL METHOD (Método manual)

El Manual Method (método manual) emplea un procedimiento manual para depositar la suspensión de células en los portaobjetos y teñir la preparación. Los pasos de recogida y procesado de las muestras ginecológicas son idénticos para el Manual Method (método manual) y para el método PrepStain® aprobado, hasta la fase en la que se utiliza el PrepStain® instrument (instrumento).

Con el método PrepStain®, los pellets de células centrifugados se colocan directamente en el PrepStain® instrument (instrumento) para su procesado automatizado con el fin de obtener SurePath® slides (portaobjetos) teñidos.

Con el Manual Method (método manual), se añade agua desionizada al pellet de células centrifugado y luego se mezcla con vórtex para obtener una suspensión y randomización de la muestra. La muestra se transfiere a una cámara de sedimentación montada en un SurePath® PreCoat Slide (portaobjetos prerrevestido). Una vez que la muestra se haya estabilizado en el portaobjetos, se teñirá siguiendo un procedimiento de Papanicolau de tinción de lotes.

RECuento DE PORTAObjETOS

En la tabla 17, se muestra el recuento de portaobjetos para estudios clínicos. Es importante tener en cuenta que el estudio consistía en **tres portaobjetos por caso**.

Tabla 17 Recuento de portaobjetos

	Casos	Portaobjetos
Número total reclutados para el estudio	471	1,413
Número total excluidos del análisis	−68	−204
Documentación incompleta	−39	−117
Portaobjetos preparados de forma incorrecta	−24	−72
Otros motivos de exclusión*	−5	−15
Número total incluidos en el análisis	403	1,209

* Ausencia de muestras, números de paciente duplicados, etc.

DATOS DEMOGRÁFICOS DE LA POBLACIÓN

En la tabla 18, se muestra la proporción de pacientes por edades que participaron en el estudio.

Tabla 18 Datos demográficos de pacientes

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

En la tabla 19, se muestra la información clínica actual y, en la tabla 20, el historial clínico de todos los casos incluidos en la población estudiada. Tenga en cuenta que se permitió seleccionar más de un elemento, por lo que es posible que el recuento total de casos no guarde 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 de sustitución de estrógenos	19
DIU	2
Anticonceptivos orales/implantes	20
Ningún anticonceptivo	181
Información no disponible	22

Tabla 20 Historial clínico

Historial	Número de casos
Citología anterior anormal	13
Historial de hemorragia anormal	36
Biopsia	3
Historial de cáncer	1
Quimioterapia	0
Radioterapia	0
Colposcopia	9
VIH/SIDA	0
Virus del papiloma humano	0
Herpes	1
Historial de BTL*	1
Historial de PID**	57
Ninguna observación	363

- * Ligadura bilateral de trompas
- * Enfermedad pélvica inflamatoria

RESULTADOS DEL ESTUDIO

Este estudio tenía por objetivo establecer que los SurePath® slides (portaobjetos) preparados con los procedimientos del método PrepMate® y del Manual Method (método manual) ofrecían unos resultados equivalentes a los de los portaobjetos preparados con el método PrepStain® aprobado. Los datos clínicos muestran que los portaobjetos preparados con el método PrepMate® y el Manual Method (método manual) ofrecían unos resultados comparables, en cuanto a morfología y calidad, a los de los portaobjetos preparados con el método PrepStain® aprobado.

Los datos clínicos también muestran que el método PrepMate® y el Manual Method (método manual) ofrecen un rendimiento equiparable al del método PrepStain® aprobado. Además, no existe diferencia entre la idoneidad de los portaobjetos preparados con el método PrepMate® y el Manual Method (método manual) y la de los portaobjetos preparados con el método PrepStain® aprobado. Estos hallazgos sostienen la equiparabilidad del método PrepMate® y el Manual Method (método manual) con el método PrepStain® aprobado.

MORFOLOGÍA Y CALIDAD DE LAS MUESTRAS

En la tabla 21, se muestran los resultados de los objetivos principales. Se evaluó la aceptabilidad de los portaobjetos preparados con 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 de confianza del 95% exacto correspondiente.

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

Método de preparación de portaobjetos							
Criterios de aceptabilidad		PrepStain®		PrepMate®		Manual Method	
		Índice (n/N)	IC de 95% exacto	Índice (n/N)	IC de 95% exacto	Índice (n/N)	IC de 95% exacto
	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 aceptabilidad del método PrepMate® y del Manual Method (método manual) son casi siempre iguales o superiores a los del método PrepStain®. Además, los intervalos de confianza del 95% exactos correspondientes al método PrepMate® y al Manual Method (método manual) se solapan considerablemente con los del método PrepStain® aprobado en cada uno de los criterios. Esto implica que los portaobjetos preparados con el método PrepMate® y el Manual Method (método manual) ofrecen unos resultados comparables, en cuanto a morfología y calidad, a los de los portaobjetos preparados con el método PrepStain® aprobado. Así pues, la calidad de la preparación es la misma tanto en el método aprobado como en los otros dos métodos de prueba.

CONCORDANCIA ENTRE DIAGNÓSTICOS

Este análisis compara los diagnósticos de los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos. Debido a que estos datos fueron obtenidos a partir de muestras divididas, las matrices de diagnóstico que se muestran en las tablas 22 y 23 están basadas en muestras emparejadas preparadas con cada uno de los métodos (PrepMate® y Manual Method (método manual)) en comparación con el método PrepStain®. Se espera que el diagnóstico obtenido de los portaobjetos preparados con ambos métodos sea el mismo. Esto queda reflejado por el número de portaobjetos con diagnósticos idénticos que se muestra en 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 del 95% exactos correspondientes. El segundo punto de concordancia se obtiene de la estadística kappa, que se calculó y probó para cada comparación. La prueba determina si el grado de concordancia entre ambos métodos era superior a lo que cabría esperar. Dado que las observaciones están ordenadas, resulta más importante contar con observaciones que se encuentren en la diagonal principal o cerca de ésta. La estadística kappa ponderada otorga mayor peso a las observaciones que se encuentran en la diagonal principal o cerca de ella.

COMPARACIÓN DEL MÉTODOS PREPSTAIN® APROBADO CON EL MÉTODO PREPMATE®

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

Si se borran la primera fila y la primera columna para eliminar los portaobjetos no satisfactorios de la tabla, 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 PrepStain® aprobado y el método PrepMate® cuentan con una elevada proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según indica la proporción de portaobjetos en la diagonal principal de la tabla. Además, el análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mucho mayor de lo que cabría esperar.

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

		Diagnóstico con el método PrepStain®									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	ATYPIA	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico con el método 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
	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

COMPARACIÓN DEL MÉTODO PREPSTAIN® APROBADO CON EL MANUAL METHOD (método manual)

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

Si se borran la primera fila y la primera columna para eliminar los portaobjetos no satisfactorios de la tabla, 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 PrepStain® aprobado y el Manual Method (método manual) presentan una elevada proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según indica la proporción de portaobjetos en la diagonal principal de la tabla. Además, el análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mucho mayor de lo que cabría esperar. Así pues, los resultados diagnósticos son los mismos tanto en el método aprobado como en los otros dos métodos de prueba.

Tabla 23 Tabulación cruzada de diagnósticos obtenidos con los métodos PrepStain® y Manual Method (método manual)

		Diagnóstico con el método PrepStain®									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	ATYPIA	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico con método manual	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

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.

En la tabla 24, se muestran los resultados de idoneidad obtenidos al comparar el método PrepStain® aprobado con el método PrepMate®.

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

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

En la tabla 25, se muestran los resultados de idoneidad obtenidos al comparar el método PrepStain® aprobado con el Manual Method (método manual).

Tabla 25 Resultados de idoneidad para portaobjetos preparados con los métodos PrepStain® y Manual

		PrepStain®		
		Resultado del método		
Resultado del Manual Method	SAT o SBLB	SAT o SBLB	UNSAT	
	UNSAT	398	2	400
		0	3	3
		398	5	403

En estas dos comparaciones, se demuestra que el método PrepMate® y el Manual Method (método manual) no se diferencian del método PrepStain® aprobado en cuanto a la idoneidad de los portaobjetos.

ESTUDIO DEL MÉTODO “DIRECTO AL VIAL”

Después de la aprobación inicial del sistema PrepStain® por parte de la FDA, TriPath Imaging llevó a cabo un importante estudio de este sistema, con la participación de varios centros, para determinar sus resultados cuando se utiliza con muestras en el método “directo al vial”. En los estudios clínicos anteriores, se había utilizado un método de muestras divididas, en el que la muestra se utilizaba primero para crear un portaobjetos de Papanicolau convencional y el resto de la muestra se depositaba en el SurePath® collection fluid (líquido de recogida) y se procesaba con el PrepStain® System para crear un SurePath® slide (portaobjetos). Está demostrado que los estudios de muestras divididas subestiman los resultados reales de la prueba, que se prepara con material celular residual¹².

En este estudio, se compararon los resultados obtenidos con los SurePath® slides (portaobjetos) creados con muestras de tipo “directo a vial” con extensiones de Papanicolau convencionales. Los resultados obtenidos con los SurePath® slides (portaobjetos) se compararon con los obtenidos con un grupo anterior de extensiones de Papanicolau convencionales. En concreto, este estudio evaluó si los SurePath® slides (portaobjetos) mejoraban la detección de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL), adenocarcinoma in-situ y 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 de recogida de muestras de Papanicolau convencional al método SurePath®. Las muestras obtenidas en estas clínicas se enviaron a tres centros para su procesamiento.

La población convencional estaba constituida por 58.988 portaobjetos procedentes de las mismas clínicas que los SurePath® slides (portaobjetos). Esta población histórica se obtuvo empezando por los portaobjetos más recientes antes de la conversión de las clínicas al método SurePath® y después, retrocediendo en el tiempo hasta obtener una población de portaobjetos convencionales y SurePath® aproximadamente del mismo número en cada clínica.

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

Tabla 26 Comparación de los índices de detección según los 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 los resultados de cada centro. Cada laboratorio deberá controlar minuciosamente la calidad de su trabajo.

PROCEDIMIENTO

En el Manual del usuario del PrepStain® System, se ofrecen los procedimientos completos para preparar SurePath® slides (portaobjetos).

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NOMBRE Y SEDE EMPRESARIAL

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 EE.UU.



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Todos los derechos reservados.

BD, el logotipo de BD y BD ProbeTec son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

Foglio illustrativo del sistema PrepStain®

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

USO PREVISTO

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

SurePath® Preservative Fluid (conservante) è un mezzo appropriato per il prelievo e il trasporto di campioni ginecologici da sottoporre ai saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Per istruzioni sull'uso di SurePath® Preservative Fluid (conservante) per la preparazione dei campioni di utilizzare in questi saggi, fare riferimento al foglio illustrativo.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Il sistema PrepStain® converte una sospensione liquida di un campione di cellule cervicali in uno strato sottile omogeneo di cellule di colorazione discreta mantenendo nel contempo i gruppi di cellule diagnostici.²⁻⁹ Il processo comprendente conservazione cellulare, randomizzazione, arricchimento del materiale diagnostico, pipettamento, sedimentazione, colorazione e applicazione di coprioggetto consente di creare un SurePath® Slide (vetrino) da utilizzare nelle normali operazioni di screening citologico e classificazione descritte dal sistema Bethesda.¹ Il SurePath® Slide (vetrino) presenta una popolazione di cellule colorate ben conservate contenute in una superficie circolare del diametro di 13 mm. Gli artefatti derivanti dall'esposizione all'aria, il materiale cellulare indistinto e sovrapposto e i detriti vengono in gran parte eliminati. Il numero di globuli bianchi viene notevolmente ridotto per consentire una migliore visualizzazione delle cellule epiteliali, delle cellule rilevanti ai fini diagnostici e degli organismi infettivi.

Il processo SurePath® ha inizio quando personale medico qualificato utilizza un dispositivo di prelievo (per esempio, Cervex Brush® di Rovers Medical Devices B.V., Oss, Olanda) o dispositivi combinati tipo brush endocervicale/spatola in plastica (per esempio, la spatola Cytobrush® Plus GT e Pap Perfect® di Medscand, USA, Inc., Trumbull, CT) con teste smontabili per raccogliere campioni ginecologici. Anziché eseguire lo striscio delle cellule raccolte dai dispositivi di prelievo su un vetrino, le teste dei dispositivi possono essere staccate dall'impugnatura e inserite direttamente in una fiala contenente SurePath® Preservative Fluid (conservante). La fiala viene quindi tappata, etichettata e inviata con la dovuta documentazione allegata al laboratorio di analisi. Le teste dei dispositivi di prelievo non vengono mai rimosse dalla fiala di conservazione contenente il campione raccolto.

In laboratorio, il campione conservato viene miscelato su vortex* e trasferito in PrepStain® Density Reagent (reagente di densità). Mediante una fase di arricchimento consistente nella sedimentazione centrifuga attraverso il reagente di densità vengono eliminati dal campione i detriti non rilevanti ai fini diagnostici e le cellule infiammatorie in eccesso. Dopo la centrifugazione, le cellule precipitate vengono risospese, miscelate e trasferite in una PrepStain® Settling Chamber (camera di sedimentazione) fissata su un SurePath® PreCoat slide (vetrino). Le cellule vengono sedimentate per gravità e quindi colorate con una procedura di colorazione Papanicolaou modificata. Il vetrino viene schiarito con xylene o un sostituto dello xylene e quindi si applica il coprioggetto. Le cellule comprese entro una superficie circolare del diametro di 13 mm vengono esaminate al microscopio da tecnici di citologia e medici patologi qualificati, in grado di valutare eventuali altre informazioni generali di rilievo riguardanti la paziente.

* Nota: per il test ausiliario, l'aliquota fino a 0,5 mL può essere prelevata dopo la fase di agitazione su vortex nel processo di esecuzione del test SurePath® LBC.

LIMITAZIONI

- I campioni ginecologici per l'allestimento con il sistema PrepStain® devono essere raccolti utilizzando dispositivi di prelievo tipo cervex brush o dispositivi combinati tipo brush endocervicale/spatola in plastica con teste smontabili, conformemente alla procedura di raccolta standard indicata dal produttore. Non utilizzare spatole in legno con il sistema PrepStain®. Non utilizzare dispositivi endocervicali tipo brush/spatola in plastica con teste non smontabili con il sistema PrepStain®.
- Un addestramento adeguato sotto la guida di personale autorizzato è un requisito fondamentale per poter preparare ed esaminare i vetrini SurePath®. I tecnici di citologia e i medici patologi devono essere addestrati per la valutazione della morfologia su SurePath® Slides (vetrini). L'addestramento prevede un esame di competenza. Alle clienti del laboratorio vengono forniti set informativi sui vetrini e sul test. TriPath Imaging, Inc. è disposta inoltre a seguire i clienti nella preparazione di vetrini di addestramento ottenuti dalle specifiche popolazioni di pazienti.
- Il funzionamento appropriato del sistema PrepStain® richiede l'uso esclusivo delle forniture supportate da TriPath Imaging o raccomandate da TriPath Imaging per l'uso con il sistema PrepStain®. Le forniture usate devono essere smaltite in maniera appropriata, in conformità alle norme istituzionali e governative.
- Tutte le forniture sono monouso e non sono riutilizzabili.
- Per l'esecuzione del test SurePath® LBC è necessario un volume di 8,0 ± 0,5 mL del campione raccolto nella SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante).

Reagenti



Per uso diagnostico in vitro. Esclusivamente per uso in laboratorio

Avvertenze



SurePath® Preservative Fluid (conservante) contiene una soluzione acquosa di etanolo denaturato. La miscela contiene piccole quantità di metanolo e isopropanolo. Non ingerire.



PrepStain® Density Reagent (reagente di densità) contiene sodio azide. Non ingerire. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, sciacquare le tubature con abbondante acqua per prevenire l'eventuale accumulo di azide. Per ulteriori informazioni, consultare il documento DHHS (NIOSH) N. 78-127 Current 13, pubblicato dai Centers for Disease Control (CDC). Visitare il sito web: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



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

PRECAUZIONI

- È necessario seguire corrette pratiche di laboratorio e osservare scrupolosamente tutte le procedure per l'uso del sistema PrepStain®.
- Conservare i reagenti a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) e utilizzarli prima delle date di scadenza per garantire un rendimento ottimale. Le condizioni di stoccaggio di SurePath® Preservative Fluid (conservante) privo di campioni citologici sono 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C). La durata massima di stoccaggio di SurePath® Preservative Fluid (conservante) contenente campioni citologici è 6 mesi a temperatura refrigerata (tra 2 °C e 10 °C) o 4 settimane a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (conservante) contenente campioni citologici da usare nei saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ CT Q⁺ e GC Q⁺ può essere stoccato e trasportato per un massimo di 30 giorni a 2° - 30° C prima di essere trasferito nelle provette di diluizione di campioni citologici a base liquida (LBC) Dilution per saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ Q⁺.
- Evitare schizzi o la generazione di aerosol. Utilizzare mezzi di protezione adeguati per le mani, gli occhi e gli indumenti.
- SurePath® Preservative Fluid (conservante) è battericida ed è stato sottoposto con esito positivo a test di efficacia nei confronti di *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger*. I campioni di SurePath® Preservative Fluid (conservante) inoculati con 10⁶ CFU/ml di ciascuna specie non hanno evidenziato alcuna crescita dopo 14 giorni (28 giorni per il *Mycobacterium tuberculosis*) di incubazione in condizioni standard. Tuttavia, è opportuno adottare sempre le precauzioni standard per una manipolazione sicura dei liquidi biologici.
- La mancata osservanza delle procedure raccomandate descritte nel manuale per l'operatore del sistema PrepStain® può inficiarne il rendimento.

PRELIEVO OPZIONALE DI UN'ALIQUOTA

- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) contiene un volume di campione sufficiente a consentire il prelievo di 0,5 mL di miscela omogenea di cellule e liquido per i test ausiliari prima del pap test SurePath® conservando ancora volume sufficiente per questo test.
- Non esistono prove che il prelievo di un'aliquota di campione da SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) influenzi la qualità del campione per il test citologico, tuttavia durante questo processo possono verificarsi rari casi di errata collocazione del materiale diagnostico pertinente. Se i risultati non sono correlati alla storia clinica della paziente, può essere necessario il prelievo di un altro campione da parte degli operatori sanitari. Inoltre, dato che la citologia affronta problemi clinici diversi dai test sulla malattie sessualmente trasmissibili (STD), il prelievo dell'aliquota può non essere adatto a tutte le situazioni cliniche. Se necessario, si può prelevare un altro campione per il test STD invece di prelevare un'aliquota da SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante).
- Il prelievo di un'aliquota da campioni a bassa cellularità può lasciare in SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) materiale insufficiente per la preparazione di un pap test SurePath® soddisfacente.
- L'aliquota deve essere prelevata prima dell'esecuzione del pap test SurePath®. Prima dell'esecuzione del pap test, è possibile prelevare una sola aliquota da SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante), indipendentemente dal volume dell'aliquota.

Procedura

1. Per garantire una miscela omogenea, SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) deve essere agitata in vortex per 10 - 20 secondi e poi l'aliquota da 0,5 mL deve essere prelevata entro un minuto.
2. Per il prelievo dell'aliquota è necessario usare una punta per pipette di polipropilene con barriera antiaerosol di misura appropriata al volume da prelevare. *Nota:* non usare pipette sierologiche. Seguire le corrette pratiche di laboratorio per non rischiare di introdurre contaminanti in SurePath® Preservative Fluid collection vial (fiala per il prelievo con conservante) o nell'aliquota. Il prelievo dell'aliquota dovrebbe essere effettuato in una zona adatta, fuori dall'area in cui viene eseguita l'amplificazione.
3. Verificare visivamente che il materiale dell'aliquota dentro la pipetta non presenti particolari grossolani di grandi dimensioni o semisolidi. Il riscontro di materiale di questo tipo durante il prelievo dell'aliquota del campione dovrebbe consigliare di reinfondere il materiale nella fiala e di scartare il campione per i test ausiliari prima dell'esecuzione del pap test.
4. Per istruzioni sull'elaborazione dell'aliquota usando i saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ Chlamydia trachomatis (CT) Q⁺ e Neisseria gonorrhoeae (GC) Q⁺, fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio, fornito dal produttore del saggio.

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 (vetrini), senza l'uso dello strumento PrepStain®.

Materiali forniti

- Strumento PrepStain®
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) contenente SurePath® Preservative Fluid (conservante)
- Uno o più dispositivi di prelievo cervicale con una o più teste staccabili
- PrepStain® Density Reagent (reagente di densità)
- PrepStain® Syringing Pipettes (pipette di erogazione)
- PrepStain® Settling Chambers (camere di sedimentazione)
- Kit di colorazione per citologia
- SurePath® PreCoat slides (vetrini)
- Provette per centrifuga
- Rack per vetrini e provette
- Punte per trasferimento e aspiratore monouso

Materiali necessari ma non forniti

- Miscelatore vortex
- Acqua deionizzata (pH 7,5 - 8,5)
- Isopropanolo e alcool per reagente
- Diafanizzante, mezzo di montaggio, vetrini coprioggetti

Stoccaggio

Le condizioni di stoccaggio di SurePath® Preservative Fluid (conservante) privo di campioni citologici sono 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C).

La durata massima di stoccaggio di SurePath® Preservative Fluid (conservante) contenente campioni citologici è di 6 mesi a temperatura refrigerata (tra 2 °C e 10 °C) o 4 settimane a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C).

SurePath® Preservative Fluid (conservante) contenente i campioni citologici da usare nei saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ CT Q⁺ e GC Q⁺ può essere stoccato e trasportato per un massimo di 30 giorni a 2° - 30° C prima di essere trasferito nelle provette di diluizione di campioni citologici a base liquida (LBC) Dilution per i saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ Q⁺.

INTERPRETAZIONE DIAGNOSTICA E ADEGUATEZZA DELL'ALLESTIMENTO

Dopo la formazione dell'utente autorizzata da TriPath Imaging per l'uso del sistema PrepStain® e dei SurePath® Slides (vetrini), ai SurePath® Slides (vetrini) 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 questi preparati.

In assenza di cellule anomale, il preparato è considerato inadeguato se sono presenti una o più 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 (vetrini):

- Per ciascun modello di microscopio usato nello screening, controllare il manuale del produttore del microscopio o contattare il produttore del microscopio per stabilire l'area del campo visivo utilizzando l'oculare desiderato e l'obiettivo 40x. In alternativa, calcolare l'area del campo utilizzando un emocitometro o una scala di misurazione dei vetrini analoga (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 determinata dividendo la superficie approssimativa di deposito delle cellule pari a 130 mm² del SurePath® Slide (vetrino) per l'area del campo del microscopio specifico.

Il numero ottenuto viene quindi diviso per le 5.000 cellule che rappresentano il numero minimo. Il risultato equivale alla media di adeguatezza minima raccomandata per le cellule epiteliali in un campo visivo dell'obiettivo 40x. Annotare tale numero e conservarlo come riferimento per i tecnici citologici. Le linee guida Bethesda 2001 indicano il numero approssimativo di cellule per campo per una preparazione da 13 mm.

- Contare almeno dieci campi orizzontalmente o verticalmente al centro del diametro del preparato.
 - 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 citologico nel corso del procedimento di screening.
- (2) Il 75% o più delle componenti cellulari è oscurato da infiammazione, sangue, batteri, muco o artefatti che precludono l'interpretazione citologica del vetrino.

L'eventuale osservazione di screening anomalo o incerto deve essere indirizzata a un tecnico di patologia per l'esame e la diagnosi. Il patologo deve osservare eventuali cambiamenti morfologici cellulari significativi dal punto di vista diagnostico.

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI: STUDI CLINICI

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

TriPath Imaging ha condotto uno studio clinico crociato, split-sample, in cieco, prospettico in più siti per confrontare i risultati diagnostici dei SurePath® Slides (vetrini) 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 inoltre l'adeguatezza.

Conformemente alle raccomandazioni del documento "Points to Consider" della FDA per i dispositivi di citologia cervicale,¹⁰ è stato preparato innanzi tutto il Pap smear convenzionale e quindi il campione rimanente sul dispositivo di prelievo di tipo cervex brush è stato depositato in una SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante).

Dopo il trasporto al laboratorio, ogni sospensione cellulare conservata è stata elaborata in base al protocollo del sistema PrepStain®. Il SurePath® Slide (vetrino) ottenuto 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%) e 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 tentato di 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. Su 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 (vetrini) 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 sarebbe stata eliminata) per il SurePath® Slide (vetrino).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 (vetrini) e dei Pap smear convenzionali in caso di lettura manuale, il patologo di riferimento ha determinato il livello di anomalia per i casi e lo ha confrontato con le diagnosi fornite 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 (vetrini) con il sistema PrepStain® in contrapposizione al preparato Pap smear convenzionale. L'ipotesi nulla che la 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 (vetrini) contrapposti a quelli dei vetrini convenzionali per le categorie di trattamento diagnostico: entro limiti normali (WNL, Within Normal Limits), cellule squamose atipiche di significato indeterminato/cellule ghiandolari atipiche di significato indeterminato (ASCUS/AGUS, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance), lesione intraepiteliale squamosa a basso grado (LSIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion), lesione intraepiteliale squamosa ad alto grado (HSIL, High-grade Squamous Intraepithelial Lesion) e cancro (CA, Cancer).

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	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
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								
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	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
	Totale	7.768	531	39	271	177	21	8.807

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				
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	Riuscito		Errore	
	Riuscito	113	205	318
	Errore	180	229	409
		293	434	727

Riuscito = ASCUS/AGUS
Errore = WNL e Reactive/Reparative

Risultato del test di McNemar: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Errori test convenzionale: 205
Errori SurePath®: 180

La Tabella 3 presenta i risultati relativi ai 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			
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	Riuscito		203
	Errore	63	
	Riuscito	140	140
	Errore	54	
		194	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 SurePath®: 54

La Tabella 4 presenta i risultati relativi ai casi identificati dal patologo di riferimento come LSIL. Gli errori comprendono WNL, Reactive/Reparative e ASCUS/AGUS. Come per 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			
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	Riuscito		188
	Errore	28	
	Riuscito	160	74
	Errore	36	
		196	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 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			
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	Riuscito		21
	Errore	2	
	Riuscito	19	6
	Errore	5	
		24	27

Riuscito = CA
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 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+ e Analisi errori discordanti (LSIL è stato considerato un errore in questa analisi)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
Vetrino SurePath® preparato 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 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 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 un errore, anziché una discrepanza di poca importanza, i vetrini SurePath® 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 citologici atto a 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 (vetrini SurePath® preparati con sistema PrepStain® e vetrini preparati in modo tradizionale) sono stati rianalizzati da un secondo tecnico citologico 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 giudicata insufficiente 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	
Vetrino SurePath® preparato 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 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	
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	Riuscito	32	3	35
	Errore	3	0	3
		35	3	38

Riuscito = CA
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 SurePath®: 3

La Tabella 9 presenta i risultati indicati come cancro dal nuovo 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: 2097 Confronto diretto dei 2097 risultati dei siti – Nessun patologo di riferimento

		Pap smear allestito in modo tradizionale						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totale
Vetrino SurePath® preparato 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
	Totale	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Sui 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+ e Analisi errori discordanti (LSIL è stato considerato un errore in questa analisi)

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	Errore	
Vetrino SurePath® preparato 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 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)	Vetrino SurePath® preparato 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 a 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 "inadeguati" 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. Su 239 casi inadeguati, 151 sono stati osservati solo su vetrini convenzionali, 70 solo sul sistema BD SurePath® e 18 sono stati rilevati sia sui vetrini convenzionali sia sui SurePath® Slides (vetrini). 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)	Vetrino SurePath® preparato 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	1,118	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
Vetrino SurePath® preparato 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: X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: Risultato del test di McNemar: X^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 con i SurePath® Slides (vetrini) rispetto a quanto rilevato con i 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
Vetrino SurePath® preparato con sistema PrepStain®	SAT	8.807	151
	UNSAT	70	18
		8.877	169

Risultato del test di McNemar: X^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 vetrini SurePath® 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	SurePath® SBLB ECC assenti N. (%)	SBLB convenzionale ECC assenti 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 analoga a quella notata negli studi precedenti con metodologia split-sample.^{16,17}

I SurePath® Slides (vetrini) 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 di laboratorio. È stato inoltre riscontrato un numero decisamente inferiore di casi inadeguati e SBLB con i SurePath® Slides (vetrini) rispetto a quanto rilevato con i Pap smear convenzionali. Il SurePath® Slide (vetrino) può essere quindi utilizzato 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 VETRINI SUREPATH® CON PREPMATE® E I METODI MANUALI

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

- L'integrazione dell'accessorio PrepMate® (metodo PrepMate®), che automatizza le fasi iniziali manuali del procedimento di laboratorio PrepStain®. Il metodo PrepMate® miscela e rimuove automaticamente il campione dalle fiale con il conservante SurePath® e stratifica il campione sul PrepStain® Density Reagent (reagente di densità) in una provetta.
- L'integrazione del metodo manuale, 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 (vetrini). 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 (vetrini) 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 (vetrini) allestiti utilizzando il metodo manuale rispetto ai vetrini allestiti con il metodo PrepStain® approvato;

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 attribuire alla pura casualità;
- Stabilire se il livello di concordanza tra il metodo PrepStain® approvato e il metodo manuale era superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire alla pura casualità;
- valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema PrepStain® per l'allestimento dei SurePath® Slides (vetrini) avvalendosi del metodo PrepMate®;
- Valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema PrepStain® per l'allestimento dei SurePath® Slides (vetrini) avvalendosi del metodo manuale.

ACCESSORIO PREPMATE®

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 metodo PrepMate® miscela e rimuove con cura il campione dalle SurePath® Preservative Vials (fiale con il conservante) e stratifica il campione sul PrepStain® Density Reagent (reagente di densità) in una provetta. Il rack dei campioni precaricato contenente le fiale di campioni, le pipette di erogazione e le provette (contenenti il reagente di densità) viene posizionato sulla vaschetta dello strumento. Il rack contiene fino a dodici fiale, provette e pipette di erogazione sistemate su tre file per quattro ciascuna. Le fiale, le pipette di erogazione 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 l'analisi 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 l'analisi automatizzata in modo da produrre i vetrini SurePath® colorati.

Nel metodo manuale, l'acqua deionizzata viene aggiunta al precipitato di cellule centrifugate, quindi viene mescolata 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 totale incluso nell'analisi	403	1.209

* Campioni mancanti, numeri paziente duplici ecc.

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
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; pertanto, è possibile che il totale dei casi non corrisponda al numero complessivo di casi presenti nella popolazione dello studio.

Tabella 19 Informazioni cliniche attuali

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 via 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 (vetrini) allestiti mediante le procedure del metodo PrepMate® e del metodo manuale reggono il confronto con quelli allestiti utilizzando il metodo PrepStain® approvato. I dati clinici dimostrano che i vetrini allestiti con il metodo PrepMate® e con il metodo manuale sono equiparabili in termini di morfologia e qualità a quelli allestiti con il metodo PrepStain® approvato.

I dati clinici dimostrano inoltre che il rendimento diagnostico è uguale per il metodo PrepMate® e il metodo manuale rispetto al metodo PrepStain® approvato. Infine, l'adeguatezza dei vetrini allestiti con il metodo PrepMate® e con il metodo manuale non è diversa da quella rilevata per i vetrini allestiti con il metodo PrepStain® approvato. Questi risultati avvalorano la comparabilità del metodo PrepMate® e del metodo 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 allestiti con ciascun metodo è stata valutata in funzione dei criteri di morfologia e di qualità descritti nella tabella. Per ciascun criterio, è stata calcolata la proporzione di vetrini accettabili unitamente all'esatto intervallo di confidenza del 95% corrispondente.

Tabella 21 Confronto dei tassi e degli intervalli di confidenza (CI) per i criteri di accettabilità

Metodo di allestimento dei vetrini							
		PrepStain®		PrepMate®		Metodo manuale	
		Tasso (n/N)	CI 95% esatto	Tasso (n/N)	CI 95% esatto	Tasso (n/N)	CI 95% esatto
Criteri di accettabilità	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 del metodo PrepMate® e del metodo manuale sono quasi sempre uguali o superiori a quelli rilevati con il metodo PrepStain®. Inoltre, gli intervalli esatti di confidenza del 95% per il metodo PrepMate® e per il metodo manuale si sovrappongono in maniera consistente con quelli rilevati nel metodo PrepStain® approvato per ciascun criterio. Ciò implica che i vetrini allestiti con il metodo PrepMate® e con il metodo manuale sono equiparabili in termini di morfologia e qualità a quelli allestiti 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 (metodo PrepMate® e metodo manuale) rispetto al 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 attribuire alla pura casualità. 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 397 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 alla pura casualità.

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

Diagnosi con il metodo PrepStain®											
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totale
Diagnosi con il metodo BD 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
	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
	Totale	5	348	12	17	9	11	0	0	1	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 alla pura casualità. Pertanto, il rendimento diagnostico è il medesimo per il metodo approvato e i due metodi analizzati.

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

Diagnosi con il metodo PrepStain®											
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totale
Diagnosi con metodo manuale	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
	Totale	5	348	12	17	9	11	0	0	1	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® con 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 il metodo PrepMate®	SAT o SBLB	SAT o SBLB UNSAT		401	
		398	3		
	UNSAT	0	2		2
		398	5		403

La Tabella 25 presenta i risultati relativi all'adeguatezza in caso di confronto del metodo approvato PrepStain® con il metodo manuale.

Tabella 25 Risultati relativi all'adeguatezza per i vetrini allestiti con metodi manuale e PrepStain®

PrepStain®				
Risultato ottenuto con il metodo PrepStain®				
Risultato ottenuto con il metodo manuale	SAT o SBLB	SAT o SBLB		UNSAT
	SAT o SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
	398		5	403

Questi due confronti dimostrano che il metodo PrepMate® e il metodo 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[®], TriPath Imaging ha condotto un ampio studio multicentrico sul sistema PrepStain[®] in caso d'uso corretto con campioni direct-to-vial. I precedenti studi clinici utilizzavano il metodo split-sample secondo cui il campione veniva usato prima per creare un vetrino con Pap smear convenzionale e il campione residuo veniva collocato nel conservante SurePath[®] e analizzato con il sistema BD PrepStain[®] per creare un SurePath[®] Slide (vetrino). È apparso che gli studi split-sample stimano per difetto il vero rendimento del test preparato dal materiale cellulare residuo.¹²

Questo studio ha confrontato il rendimento dei SurePath[®] Slides (vetrini) ottenuti con i campioni direct-to-vial prelevati con Pap smear convenzionali. I risultati ottenuti con SurePath[®] sono stati confrontati con i risultati ottenuti da una coorte storica di Pap smear convenzionali. In particolare, questo studio ha valutato se i vetrini SurePath[®] 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 a tre siti clinici per l'analisi.

La popolazione convenzionale era rappresentata da 58.988 vetrini provenienti dalle stesse cliniche dei vetrini SurePath[®]. Questa popolazione storica è stata raccolta partendo dai vetrini più recenti prima che le cliniche passassero al sistema SurePath[®] e quindi tornando indietro nel tempo fino al raggiungimento approssimativo dello stesso numero per le popolazioni di vetrini prelevati con Pap smear convenzionale e con sistema SurePath[®] in ciascun sito clinico.

I risultati di questo studio hanno dimostrato una percentuale di rilevamento di 405/58.580 per i vetrini SurePath[®] 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 (vetrini).

Tabella 26 Confronto di percentuali di rilevamento per sito HSIL+

Sito	Test convenzionale			SurePath [®]		
	Totale	HSIL+	Percentuale (%)	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
Total	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Sito	Test convenzionale			SurePath [®]		
	Totale	LSIL+	Percentuale (%)	Total	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
Totale	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Site	Test convenzionale			SurePath [®]		
	Totale	ASCUS+	Percentuale (%)	Total	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
Total	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Inadeguato

Sito	Test convenzionale			SurePath [®]		
	Totale	UNSAT+	Percentuale (%)	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
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 (vetrini).

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: 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 TL, 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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NOME E SEDE OPERATIVA

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA

EC REP

Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Tutti i diritti riservati.

Productbijlage bij het PrepStain®-systeem

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

BEOOGD GEBRUIK

Het PrepStain®-systeem is een dunnelaagcelpreparatieproces op vloeistofbasis. Het PrepStain®-systeem produceert SurePath®-objectglaasjes die bedoeld zijn als vervanging van conventionele gynaecologische uitstrijkjes. SurePath®-objectglaasjes zijn bedoeld voor gebruik bij de screening en detectie van baarmoederhalskanker, precancereuze laesies, atypische cellen en alle overige cytologische categorieën zoals gedefinieerd door het Bethesda-systeem voor het rapporteren van cervicale/vaginale cytologische diagnoses.^{1, 19}

SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) is een geschikt medium voor afname en transport van gynaecologische monsters die worden getest met behulp van BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ en *Neisseria gonorrhea* (GC) Q⁺ geamplificeerde DNA-tests. Raadpleeg de bijsluiters in de testverpakking voor instructies voor het gebruik van SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) bij het prepareren van monsters voor het gebruik met deze tests.

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE PROCEDURE

Het PrepStain®-systeem zet een vloeibare suspensie van een cervicaal celmonster om in een discreet gekleurde, homogene, dunne laag cellen, terwijl de diagnostische celclusters behouden blijven.²⁻⁹ Het proces omvat celconservatie, randomisatie, verwijking van diagnostisch materiaal, pipettering, sedimentatie, kleuring en afdekking om een SurePath®-objectglaasje te maken voor gebruik tijdens routinematige cytologiescreening en categorisatie zoals gedefinieerd door het Bethesda-systeem.¹ Het SurePath®-objectglaasje toont een goed geconserveerde populatie gekleurde cellen die zich binnen een cirkel met een diameter van 13 mm bevinden. Artefacten als gevolg van het drogen aan de lucht, afdekking, overlappend celmateriaal en vuil worden grotendeels verwijderd. Het aantal witte bloedcellen wordt aanzienlijk verminderd, waardoor epitheelcellen, diagnostisch relevante cellen en besmettelijke organismen makkelijker zichtbaar kunnen worden gemaakt.

Het SurePath®-proces begint met het gebruik van een borstelachtig afname-instrument door getraind medisch personeel (bijvoorbeeld Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Nederland) of een combinatie van endocervicale borstel/plastic spatel (bijvoorbeeld Cytobrush® Plus GT- en Pap Perfect®-spatel, Medscand (VS) Inc., Trumbull, CT) met afneembare kop(pen) voor het verzamelen van gynaecologische monsters. In plaats van de cellen die door het afname-instrument zijn verzameld, uit te strijken over een objectglaasje, kunnen de koppen van de afname-instrumenten van de handgreep worden genomen en in een potje met SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) worden geplaatst. Het potje wordt voorzien van een dop en etiketten en wordt voor verdere verwerking met de juiste documenten naar het laboratorium verstuurd. De koppen van de afname-instrumenten worden nooit verwijderd uit het potje met conserveervloeistof dat het verzamelde monster bevat.

In het laboratorium wordt het geconserveerde monster gemengd met behulp van een vortexer* en vervolgens overgebracht naar PrepStain® Density Reagent (dichtheidsreagens). Tijdens een verrijkingstap, bestaande uit centrifugatie middels dichtheidsreagens, worden niet-diagnostisch vuil en overmatige ontstekingscellen gedeeltelijk uit het monster verwijderd. Na centrifugatie worden de celpellets geresuspenderd, gemengd en overgebracht naar een PrepStain® Settling Chamber (bezinkkamer) die is aangebracht op een SurePath® PreCoat-objectglaasje. De cellen worden gesedimenteerd door de zwaartekracht en vervolgens gekleurd door middel van een aangepaste Papanicolaou-kleuringsprocedure. Het objectglaasje wordt gereinigd met xyleen of een xyleenvervangende stof en afgedekt. De cellen die zich binnen een cirkel met een diameter van 13 mm bevinden, worden microscopisch onderzocht door getrainde cytotechnologen en pathologen die bovendien toegang hebben tot andere relevante patiëntgegevens.

* Opmerking: als aanvullende test kan een aliquot van maximaal 0,5 mL worden verwijderd na de stap met de vortexer in het SurePath® LBC-testproces.

BEPERKINGEN

- Gynaecologische monsters voor preparaten die gebruikmaken van het PrepStain®-systeem, moeten worden afgenomen door middel van een borstelachtig afname-instrument of een combinatie-instrument endocervicale borstel/plastic spatel met afneembare kop(pen) conform de door de fabrikant geleverde standaardafnameprocedure. Spatels van hout mogen niet worden gebruikt met het PrepStain®-systeem. Combinatie-instrumenten met endocervicale borstel/plastic spatel die niet over een afneembare kop beschikken, mogen niet worden gebruikt met het PrepStain®-systeem.
- Training door bevoegde personen is een vereiste voor de productie en evaluatie van PrepStain®-objectglaasjes. Cytotechnologen en pathologen worden getraind in de morfologische analyse van de SurePath®-objectglaasjes. De training wordt afgesloten met een examen. Laboratoria ontvangen objectglaasjes en testsets voor de training. TriPath Imaging, Inc. verleent bovendien ondersteuning bij het voorbereiden van het trainingsmateriaal voor de patiëntpopulatie van elke klant.
- Voor een goede werking van het PrepStain®-systeem mogen uitsluitend instrumenten worden gebruikt die worden ondersteund of aanbevolen door TriPath Imaging voor gebruik met het PrepStain®-systeem. Gebruikte instrumenten moeten worden afgevoerd in overeenstemming met de wet- en regelgeving van de instelling en de overheid.
- Alle instrumenten zijn bestemd voor eenmalig gebruik en kunnen niet worden hergebruikt.
- Er is een volume van $8,0 \pm 0,5$ mL van het in het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) verzamelde monster vereist voor het SurePath® LBC-testproces.

Reagentia



Voor in-vitrodiagnostiek. Uitsluitend voor gebruik in laboratoria.

Waarschuwingen



SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) bevat een waterige oplossing van gedenatureerd ethanol. Het mengsel bevat kleine hoeveelheden methanol en isopropanol. Niet inslikken.



PrepStain® Density Reagent (dichtheidsreagens) bevat natriumazide. Niet inslikken. Natriumazide kan reageren met loden en koperen afvoerbuizen, waarbij zeer explosieve metaalaziden worden gevormd. Bij het afvoeren moet met ruime hoeveelheden water worden nagespoeld om ophoping van aziden te voorkomen. Raadpleeg DHHS (NIOSH) nr. 78-127 Current 13, uitgegeven door Centers for Disease Control, voor meer informatie. Zie website: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® cytologische kleuring met EA/OG-combinatie bevat alcohol. Giftig bij opname door de mond. Damp niet inademen. Voor voldoende ventilatie zorgen. Aanraking met huid en ogen vermijden. Licht ontvlambaar.

VOORZORGSMAATREGELEN

- Er moeten correcte laboratoriummethoden worden toegepast en alle gebruikspcedures van het PrepStain®-systeem moeten strikt in acht worden genomen.
- Voor een juiste werking moeten reagentia worden opgeslagen bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C) en worden gebruikt voordat de uiterste gebruiksdatum is verstreken. De opslagconditie voor SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) zonder cytologische monsters is maximaal 36 maanden vanaf de productiedatum bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C). De opslaglimiet voor SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) met cytologische monsters is 6 maanden in gekoelde toestand (2 tot 10 °C) of 4 weken bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) met cytologische monsters, bedoeld voor gebruik met de BD ProbeTec™ CT Q⁺ en GC Q⁺ geamplificeerde DNA-tests, kan maximaal 30 dagen worden opgeslagen en getransporteerd bij een temperatuur van 2 – 30 °C voordat deze wordt overgebracht naar de LBC-verdunningsbuisjes (Liquid-Based Cytology) voor de BD ProbeTec™ Q⁺ geamplificeerde DNA-tests.
- Vermijd spatten en het creëren van aerosolen. Gebruikers moeten geschikte bescherming voor handen, ogen en kleding dragen.
- SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) is getest op antimicrobiële effectiviteit tegen: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* en *Aspergillus niger*, en is effectief bevonden. SurePath® Preservative-monsters die werden ingeënt met 10^6 CFU/mL van elke soort, toonden geen groei na een incubatietijd van 14 dagen (28 dagen voor *Mycobacterium tuberculosis*) onder standaardomstandigheden. Universele voorzorgsmaatregelen voor de veilige behandeling van biologische vloeistoffen moeten echter te allen tijde worden toegepast.
- De werking kan nadelig worden beïnvloed wanneer de aanbevolen procedures zoals beschreven in de gebruikershandleiding voor het PrepStain®-systeem, niet worden nageleefd.

OPTIONELE VERWIJDERING VAN ALIQUOT

- Er is voldoende volume beschikbaar in het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) om maximaal 0,5 mL van een homogeen mengsel van cellen en vloeistof uit te nemen voor aanvullende tests, voorafgaand aan de SurePath® Pap-test, en toch nog over voldoende volume te beschikken voor de Pap-test.
- Hoewel er geen bewijs is dat het verwijderen van een aliquot uit het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) de kwaliteit van het monster voor cytologische tests beïnvloedt, kunnen zich tijdens dit proces zeldzame gevallen van foutieve toewijzing van relevant diagnostisch materiaal voordoen. Zorgverleners moeten mogelijk een nieuw monster afnemen als de resultaten niet aansluiten bij de klinische voorgeschiedenis van de patiënt. Bovendien richt cytologie zich op andere klinische kwesties dan SOA-tests (seksueel overdraagbare aandoeningen), wat betekent dat verwijdering van een aliquot mogelijk niet geschikt is voor alle klinische situaties. In plaats van een aliquot uit het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) te nemen, kan er zo nodig een afzonderlijk monster voor SOA-tests worden afgenomen.
- Bij verwijdering van een aliquot uit monsters met lage cellulariteit blijft er mogelijk onvoldoende materiaal in het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) over voor de preparatie van een bevredigende SurePath® Pap-test.
- Een aliquot moet worden verwijderd voordat de SurePath® Pap-test wordt verwerkt. Er mag slechts één aliquot uit het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) worden genomen voordat de Pap-test wordt uitgevoerd, ongeacht het volume van het aliquot.

Procedure

1. Om voor een homogeen mengsel te zorgen, moet het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) 10 – 20 seconden in de vortexer worden geplaatst en moet het aliquot van 0,5 mL binnen één minuut na gebruik van de vortexer worden uitgenomen.
2. Voor het verwijderen van het aliquot moet een pipettip van polypropyleen met aerosolbarrière worden gebruikt met een geschikte maat voor het af te nemen volume. *Opmerking:* er mogen geen serologische pipetten worden gebruikt. Er moeten correcte laboratoriummethoden worden toegepast om te vermijden dat er verontreinigingen in het SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) of het aliquot terechtkomen. Verwijdering van een aliquot moet worden uitgevoerd op een geschikte locatie buiten een zone waar amplificatie wordt uitgevoerd.
3. Voer een visuele inspectie van het aliquotmateriaal in de pipet uit op de aanwezigheid van grote deeltjes of halfvasten stoffen. Als dergelijk materiaal wordt waargenomen bij het afnemen van het aliquotmateriaal, moet al het materiaal in het monsterpotje worden geretourneerd en moet het monster worden afgekeurd voor aanvullende tests vóór uitvoering van de Pap-test.
4. Voor instructies voor het verwerken van het aliquot met de BD ProbeTec™ CT Q⁺ en GC Q⁺ geamplificeerde DNA-tests raadpleegt u de bijsluiters in de testverpakking die door de fabrikant zijn geleverd.

BENODIGDE MATERIALEN

Raadpleeg de gebruikershandleiding van het PrepStain®-systeem voor volledige informatie over reagentia, componenten en accessoires. Niet alle onderstaande materialen zijn benodigd voor het handmatig prepareren van SurePath®-objectglasjes (zonder gebruik van het PrepStain®-instrument).

Meegeleverde materialen

- PrepStain®-instrument
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotjes met conserveervloeistof) (inclusief SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof))
- Cervicale afname-instrumenten met afneembare kop(pen)
- PrepStain® Density Reagent (dichtheidsreagens)
- PrepStain® Syringing Pipettes (injectiepipetten)
- PrepStain® Settling Chambers (bezinkkamers)
- Cytologische kleuringskit
- SurePath® PreCoat-objectglasjes
- Centrifugeerbuisjes
- Rekken voor objectglasjes en buisjes
- Wegwerpoverbrengingstips en aspiratortips

Benodigde materialen die niet zijn meegeleverd

- Vortexer
- Gedeïoniseerd water (pH 7,5 tot 8,5)
- Isopropanol en alcohol van reagentkwaliteit
- Reinigingsmiddel, preparatiemedia en glazen afdekglasjes

Opslag

De opslagconditie voor SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) zonder cytologische monsters is maximaal 36 maanden vanaf de productiedatum bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C).

De opslaglimiet voor SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) met cytologische monsters is 6 maanden in gekoelde toestand (2 tot 10 °C) of 4 weken bij kamertemperatuur (15 tot 30 °C).

SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) met cytologische monsters, bedoeld voor gebruik met de BD ProbeTec™ CT Q⁺ en GC Q⁺ geamplificeerde DNA-tests, kan maximaal 30 dagen worden opgeslagen en getransporteerd bij een temperatuur van 2 – 30 °C voordat deze wordt overgebracht naar de LBC-verdunningsbuisjes (Liquid-Based Cytology) voor de BD ProbeTec™ Q⁺ geamplificeerde DNA-tests.

DIAGNOSTISCHE INTERPRETATIE EN GESCHIKTHEID VAN HET PREPARAAT

Na de door TriPath Imaging geautoriseerde gebruikerstraining over het PrepStain®-systeem en de SurePath®-objectglasjes zijn de cytologische diagnostische criteria van het Bethesda-systeem die momenteel in cytologielaboratoria worden gebruikt voor conventionele uitstrijkjes, van toepassing op de SurePath®-objectglasjes.¹ Nieuwe richtlijnen die worden aanbevolen in het Bethesda-rapportagesysteem uit 2001, behandelen preparaten op vloeistofbasis en definiëren hoe een geschikte cellulariteit specifiek voor deze preparaten moet worden bepaald.

Wanneer er geen abnormale cellen aanwezig zijn, wordt een preparaat als ongeschikt beoordeeld als aan een of meer van de volgende voorwaarden wordt voldaan:

- (1) Onvoldoende diagnostische cellen (minder dan 5.000 squameuze epitheelcellen per preparaat). Dit zijn de aanbevolen procedures voor het schatten van het aantal goed geconserveerde, squameuze epitheelcellen op SurePath®-objectglasjes:

- Voor elk microscoopmodel dat tijdens screening wordt gebruikt, moet de microscoophandleiding van de fabrikant worden geraadpleegd of contact worden opgenomen met de fabrikant om het gebied van het gezichtsveld te bepalen met gebruik van het voorkeursoculair en het 40x-objectief. Ook kan het gebied worden berekend door middel van een hemocytometer of een gelijkwaardige meetschaal

voor microscopische objectglasjes (gezichtsveld = πr^2 , waarbij r de radius van het veld is).

Het minimale gemiddelde aantal cellen per 40x-objectiefveld moet worden bepaald door de geschatte celdepositieoppervlakte van 130 mm² van het SurePath®-objectglasje te delen door de veldoppervlakte voor de specifieke microscoop. Het resulterende aantal wordt vervolgens gedeeld door het celminimum van 5.000. Het resulterende aantal is de aanbevolen minimale gemiddelde geschiktheidswaarde voor epitheelcellen in het gezichtsveld van een 40x-objectief. Noteer deze waarde en bewaar deze voor routinereferentiegebruik door de cytotechnoloog. De Bethesda-richtlijnen van 2001 geven het geschatte aantal cellen per veld voor een preparaat van 13 mm aan.

- Een minimum van tien velden moet horizontaal of verticaal langs het midden van de diameter van het preparaat worden geteld.
- Als praktisch hulpmiddel bij het evalueren van de cellulariteit kan macroscopische evaluatie van de visuele dichtheid van het gekleurde preparaat worden gebruikt, om de geschiktheid van de preparaatproductieruns te controleren. Er is echter geen vervanging voor de primaire microscopische evaluatie door de cytotechnoloog tijdens het screeningproces.

- (2) 75% of meer van de celcomponenten wordt afgedekt door ontsteking, bloed, bacteriën, slijm of artefacten die cytologische interpretatie van het glaasje uitsluiten.

Alle abnormale of twijfelachtige screeningresultaten moeten worden doorgestuurd naar een patholoog voor verdere analyse en diagnose. De patholoog moet alle morfologische celwijzigingen noteren die van belang zijn voor de diagnose.

PRESTATIEKENMERKEN: RAPPORT VAN KLINISCHE ONDERZOEKEN

EERSTE ‘SPLIT-SAMPLE’-ONDERZOEK

TriPath Imaging voerde een prospectief, gemaskeerd, klinisch onderzoek met gesplitste monsters en gekoppelde paren uit op meerdere locaties om de diagnostische resultaten van SurePath®-objectglasjes die werden geproduceerd met behulp van het PrepStain®-systeem, te vergelijken met conventioneel geprepareerde uitstrijkjes. Het doel van het onderzoek was de prestaties van SurePath® te evalueren en te vergelijken met het conventionele uitstrijkje voor de detectie van baarmoederhalskanker, precancereuze laesies en atypische cellen in verschillende patiëntpopulaties en laboratoriumopstellingen. Bovendien werd voor beide preparaten de geschiktheid geanalyseerd.

In overeenstemming met de aanbevelingen van het document “Points to Consider” (punten ter overweging) van de FDA voor cervicale cytologie-instrumenten¹⁰ werd eerst een conventioneel uitstrijkje geprepareerd, vervolgens werd het resterende monster dat achterbleef op het borstelachtige afname-instrument, in een monsterpotje met SurePath® Preservative Fluid (conserveervloeistof) geplaatst.

Na transport naar het laboratorium werden de geconserveerde celsuspensies verwerkt volgens het protocol van het PrepStain®-systeem. Het resulterende SurePath®-objectglasje en het overeenkomstige conventionele uitstrijkje werden handmatig gescreend en onafhankelijk gediagnosticeerd met behulp van diagnostische categorieën die consistent zijn met het Bethesda-systeem. Op elke locatie evalueerde een patholoog alle abnormale objectglasjes.

Consistent met de methode die door Shatzkin¹¹ is omschreven, werd in dit onderzoek op de aangewezen verwijzingslocatie een onafhankelijke referentiepatholoog ingezet, die alle abnormale en afwijkende gevallen, reparaties en 5% van de normale gevallen beoordeelde op een gemaskeerde wijze om de diagnostische “waarheid” voor elk geval te bepalen.

PATIËNTKENMERKEN

De leeftijd van de vrouwen in het onderzoek varieerde van 16 tot 87 jaar, waarbij 772 vrouwen postmenopauzaal waren. Van de 8.807 patiënten die aan het onderzoek deelnamen, hadden 1.059 patiënten een voorgeschiedenis met eerdere abnormale uitstrijkjes. De gehele bestudeerde patiëntpopulatie bestond uit de volgende etnische groeperingen: blank (44%), zwart (30%), Aziatisch (12%), Latijns-Amerikaans (10%), Indiaans (3%) en overig (1%).

Patiënten werden uitgesloten op grond van onjuiste documenten, een leeftijd jonger dan 16 jaar, hysterectomie en cytologisch onvoldoende en ongeschikte monsters. Er werd een poging gedaan zoveel mogelijk gevallen van baarmoederhalskanker en precancereuze aandoeningen te omvatten door patiënten met een hoog risico, zelden gescreende patiënten en doorverwezen patiënten te evalueren.

Van alle 10.335 gevallen werden er 9.046 toegelaten en geëvalueerd, verdeeld over acht verschillende onderzoekslocaties. Van deze 9.046 gevallen voldeden er 8.807 aan de vereisten van het Bethesda-systeem voor preparaatgeschiktheid en deze waren beschikbaar voor volledige diagnose van beide preparaten.

ONDERZOEKSRESULTATEN

Het doel van het klinische onderzoek was de prestaties van de SurePath®-objectglasjes die werden geproduceerd met behulp van het PrepStain®-systeem, te vergelijken met conventioneel geprepareerde uitstrijkjes. De objectglasjes voor beide preparaattypen werden geclassificeerd volgens de criteria van het Bethesda-systeem. Het onderzoeksprotocol was in het voordeel van het conventionele uitstrijkje, omdat dit altijd als eerste werd geprepareerd, waardoor het SurePath®-objectglasje werd beperkt tot restmateriaal dat achterbleef op het borstelachtige afname-instrument (het deel van het monster dat normaal gesproken zou zijn afgevoerd).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 gevoeligheid van de SurePath®-objectglaasjes en de conventionele uitstrijkjes te kunnen vergelijken wanneer deze handmatig worden gelezen, werd het niveau van de abnormaliteit voor de gevallen bepaald door de referentiepetholoog en vergeleken met diagnoses die werden vastgesteld door de onderzoekslocaties. De referentiediagnose werd gebaseerd op de meest abnormale diagnose van beide objectglaspreparaten door de onafhankelijke referentiepetholoog. Dit resultaat werd gebruikt als de 'ware' diagnose of referentiewaarde voor de vergelijking van de resultaten van de locaties voor het gebruik van het PrepStain®-systeem voor de preparatie van SurePath®-objectglaasjes versus conventionele preparatie van uitstrijkjes. De nulhypothese dat de gevoeligheden van de twee methoden voor preparatie van de objectglaasjes gelijkwaardig zijn, werd getest door middel van de McNemar-chi-kwadraattoets voor gekoppelde gegevens.¹⁵ In deze statistische toets werden afwijkende resultaten voor de twee preparatiemethoden vergeleken.

Tabel 1 toont een directe vergelijking van de resultaten van alle locaties voor de SurePath®-objectglaasjes versus conventionele uitstrijkjes voor de diagnostische behandelingscategoriën WNL (Within Normal Limits – binnen normale grenzen), ASCUS/AGUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance – atypische squameuze/glandulaire cellen, significantie niet bepaald), LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion – laaggradige squameuze intra-epitheliale laesie), HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion – hooggradige squameuze intra-epitheliale laesie) en CA (Cancer – kanker).

Tabel 1 Eerste 'split-sample'-onderzoek: 8.807 passende monsters — vergelijking resultaten — geen referentiepetholoog

Resultaten per locatie								
Locatiennr.	Type object-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 toont een directe vergelijking van de resultaten van alle locaties voor de SurePath®-preparatiemethode versus de preparatiemethode voor conventionele uitstrijkjes voor alle diagnostische behandelingscategoriën.

Tabel 2 Eerste 'split-sample'-onderzoek: 8.807 passende monsters Vergelijking resultaten van alle locaties — geen referentiepetholoog

Conventioneel geprepareerd uitstrijkje								
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®-objectglaasje		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totaal
	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 en tabel 2 worden geen onafhankelijke referentiepethologen weergegeven.

Tabel 3 Eerste 'split-sample'-onderzoek: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die zijn aangewezen door de referentiemethode als ASCUS/AGUS — discordante foutenanalyse

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®-objectglaasje	Succes		Fout	
	Succes	113	205	318
	Fout	180	229	409
	293		434	727

Succes = ASCUS/AGUS
Fout = WNL en 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 de gevallen die door de referentiepetholoog als ASCUS of AGUS werden beoordeeld. Deze evaluatie maakt het mogelijk dat door middel van analyse van de discordante fouten de gevoeligheid van de methoden in het ontwerp van het 'split-sample'-onderzoek wordt bepaald. Fouten zijn inclusief WNL en reactief/regeneratief. Omdat de p-waarde die werd vastgesteld door de McNemar-toets, hoger was dan 0,05, waren de resultaten voor SurePath® en het conventionele uitstrijkje gelijkwaardig.

Tabel 4 Eerste 'split-sample'-onderzoek: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die zijn aangewezen door de referentiemethode als LSIL — discordante foutenanalyse

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®-objectglaasje	Succes		Fout	
	Succes	140	63	203
	Fout	54	86	140
	194		149	343

Succes = LSIL
Fout = WNL, reactief/regeneratief en 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 de gevallen die door de referentiepetholoog als LSIL werden beoordeeld. Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief en ASCUS/AGUS. Net als bij ASCUS/AGUS was de gevoeligheid van de twee methoden in het 'split-sample'-onderzoek statistisch gelijkwaardig, met een p-waarde die hoger is dan 0,05.

Tabel 5 Eerste 'split-sample'-onderzoek: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die zijn aangewezen door de referentiemethode als HSIL+, discordante foutenanalyse (LSIL is geen fout)

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®-objectglaasje	Succes		Fout	
	Succes	160	28	188
	Fout	36	38	74
	196		66	262

Succes = HSIL+
Fout = WNL, reactief/regeneratief en 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 de gevallen die door de referentiepetholoog als HSIL+ werden beoordeeld. In deze vergelijking werd LSIL niet als een fout beoordeeld, maar als een afwijking.^{10,14,15} Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief en ASCUS/AGUS. De gevoeligheidsanalyse van de discordante fouten toonde statistische gelijkwaardigheid van de methoden in het 'split-sample'-onderzoek.

Tabel 6 Eerste 'split-sample'-onderzoek: discordante foutenanalyse voor kanker gevallen (HSIL is geen fout; LSIL wordt als een fout beoordeeld)

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®-objectglaasje	Succes		Fout	
	Succes	19	2	21
	Fout	5	1	6
	24		3	27

Goed = Kanker
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 locaties) voor de gevallen die door de referentiemethode als kanker werden beoordeeld. Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. De gevoeligheidsanalyse van de discordante fouten toonde statistische gelijkwaardigheid van de methoden. Deze 27 kankergevallen waren deel van het herevaluatieonderzoek. Deze gegevens zijn te vinden in tabel 9.

Tabel 7 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die zijn aangewezen door de referentiemethode als HSIL+, discordante foutenanalyse (LSIL werd in deze analyse als een fout beoordeeld)

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®- objectglaasje	Succes	Succes	Fout	
		94	33	
	Fout	67	68	
		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 de gevallen die door de referentiepatholoog als HSIL+ werden beoordeeld. Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. Hoewel dit niet consistent is met het originele onderzoeksprotocol¹⁰, werd een statistische vergelijking van de methoden uitgevoerd, waarbij LSIL werd beoordeeld als een diagnostische fout in vergelijking met een geval dat werd vastgesteld als HSIL+ door de onafhankelijke referentiepatholoog. In deze statistische vergelijking van de diagnostische gevoeligheden, waarbij LSIL als fout wordt beoordeeld in plaats van een kleine afwijking, zijn SurePath®-objectglaasjes die zijn geprepareerd met het PrepStain®-systeem, niet gelijkwaardig met het conventioneel geprepareerde uitstrijkje voor detectie van een afwijkend HSIL+ in het ‘split-sample’-onderzoek.

GEMASKEERDE HEREVALUATIE VAN HSIL+-GEVALLEN

Er werd een nieuwe evaluatie uitgevoerd om te bepalen of de resultaten werden beïnvloed door de kwaliteit van het preparaat of de subjectiviteit van de interpretatie. Om de 262 gevallen te kunnen evalueren waarvoor de diagnose HSIL+ werd gesteld in het originele onderzoek (tabel 7), werd een extra evaluatie uitgevoerd na de implementatie van een nieuw trainingsprogramma voor cytologen om een consistente interpretatie van de diagnostische groepen van het Bethesda-systeem te benadrukken. Deze HSIL+-gevallen werden opnieuw gemaskeerd als deel van een herevaluatie van in totaal 2.438 monsters die waren geprepareerd volgens het ‘split-sample’-protocol. De resultaten van de onderzoekslocatie voor de preparaten werden vervolgens vergeleken met een nieuwe referentiewaarde, die overeenstemming vereiste van minstens twee of drie onafhankelijke referentiepathologen met de meest abnormale cytologiediagnose.

In het referentieproces voor de herevaluatie werden beide preparaten van de discordante gevallen (met PrepStain® geprepareerde SurePath®-objectglaasjes en conventioneel geprepareerde objectglaasjes) opnieuw gescreend door een tweede cytotechnoloog, en werden nieuwe geïdentificeerde afwijkingen toegevoegd aan die van de originele screening. Drie referentiecytopathologen evalueerden vervolgens alle discordante gevallen met behulp van een gemaskeerd protocol. Deze strengere referentiemethode reduceerde het aantal HSIL+-referentiegevallen van 262 in het originele onderzoek tot 209 in de herevaluatie. Het verschil van 53 gevallen kan als volgt worden uitgelegd: 48 gevallen werden door de strengere referentiemethode beoordeeld als LSIL of minder ernstig; de nauwkeurigheid van 3 gevallen werd tijdens de herevaluatie als ongeschikt beoordeeld; en de 2 resterende gevallen waren niet beschikbaar voor beoordeling in het gemaskeerde herevaluatieonderzoek.

Tabel 8 Herevaluatieonderzoek: discordante foutenanalyse voor 209 originele HSIL+-gevallen waarvoor een herevaluatie is uitgevoerd aan de hand van strengere referentiecriteriën door drie onafhankelijke referentiepathologen

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®- objectglaasje	Succes	Succes	Fout	
		153	26	
	Fout	24	6	
		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 de gevallen die door de referentiepatholoog als HSIL+ werden beoordeeld. Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. In deze vergelijking werd LSIL als een diagnostische fout beoordeeld in vergelijking met een geval dat werd beoordeeld als HSIL+ door de onafhankelijke referentiepatholoog. Vergelijking van de diagnostische gevoeligheid toonde statistische gelijkwaardigheid van de twee methoden.

Tabel 9 Herevaluatieonderzoek: Discordante foutenanalyse voor kankergevallen (HSIL is geen fout; LSIL wordt als een fout beoordeeld)

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®- objectglaasje	Succes	Succes	Fout	
		32	3	
	Fout	3	0	
		35	3	38

Goed = Kanker
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 als kanker werden beoordeeld (alle locaties). Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. Een fout kwam voort uit een LSIL-interpretatie. Bij alle overige fouten draaide het om de interpretatie van objectglaasjes als ASCUS/AGUS of WNL. De gevoeligheidsanalyse van de discordante fouten toonde statistische gelijkwaardigheid van de methoden.

De gemaskeerde herevaluatie bevatte 2.097 nieuwe gevallen die werden gebruikt voor het opnieuw maskeren van de originele HSIL+-monsters. De analyse en vergelijking van de preparaten van deze nieuwe gevallen volgt in tabel 10.

Tabel 10 Herevaluatieonderzoek: Directe vergelijking van 2.097 locatieresultaten — geen referentiepatholoog

Conventioneel geprepareerd uitstrijkje								
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totaal
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®- objectglaasje	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 2.097 hierboven beschreven nieuwe gevallen werden 77 gevallen door de referentiepathologen beoordeeld als HSIL+. Tabel 11 toont de gevoeligheidsanalyse voor die 77 HSIL+-gevallen.

Tabel 11 Herevaluatieonderzoek: vergelijking van de resultaten van alle locaties voor gevallen die zijn aangewezen door de referentiemethode als HSIL+, discordante foutenanalyse (LSIL werd in deze analyse als een fout beoordeeld)

Conventioneel geprepareerd objectglaasje				
Met PrepStain® geprepareerd SurePath®- objectglaasje	Succes	Succes	Fout	
		25	21	
	Fout	21	10	
		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 discordante fouten in tabel 11 toonde een gelijk aantal HSIL+-fouten voor beide preparatiemethoden. Fouten zijn inclusief WNL, reactief/regeneratief, ASCUS/AGUS en LSIL. De statistische test toonde gelijkwaardigheid tussen de twee methoden in het ‘split-sample’-onderzoek, zelfs wanneer LSIL als fout werd beoordeeld in vergelijking met een referentiewaarde van HSIL+.

Tabel 12 toont een samenvatting van de omschrijvende diagnoses van goedaardige bevindingen voor alle locaties.

Tabel 12 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: Samenvatting van goedaardige celwijzigingen

Omschrijvende diagnose (aantal patiënten: 8.807)	Met PrepStain [®] geprepareerd SurePath [®] - objectglaasje		Conventioneel geprepareerd objectglaasje	
	N	%	N	%
Goedaardige celwijzigingen				
*Infectie:				
Candida-soort	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-soort	6	0,1	2	<0,1
Bacteriën (overig)	52	0,6	191	2,2
**Reactieve regeneratieve wijzigingen	424	4,8	319	3,6

* Voor de categorie Infectie hierboven werden observaties van besmettelijke agentia gemeld. Meer dan een klasse van organismen kan per geval worden getoond.

** Reactieve regeneratieve wijzigingen omvatten reactieve wijzigingen die worden geassocieerd met ontsteking, atrofische vaginitis, straling en gebruik van een spiraaltje, alsook typische regeneratie met betrekking tot squameuze, squameus metaplastische of kolomvormige epitheelcellen.

In totaal kregen 8.807 gevallen de beoordeling “ongeschikt” van de testlocatie of de referentielocatie. Nog eens 239 monsters kregen de beoordeling “ongeschikt” van de testlocatie of de referentielocatie (of beide) voor een van de preparaten of voor beide preparaten. Van de 239 ongeschikte gevallen werden er 151 alleen waargenomen op de conventionele objectglaasjes, 70 alleen op de SurePath[®]-objectglaasjes, en 18 werden er waargenomen op zowel de conventionele objectglaasjes als op de SurePath[®]-objectglaasjes. Alle ongeschikte gevallen werden uitgesloten van de diagnostische vergelijking middels de categorieën van het Bethesda-systeem, maar werden weer toegevoegd voor de vergelijking van de nauwkeurigheid van de preparaten.

De tabellen 13 tot en met 16 tonen de resultaten van de nauwkeurigheid van de preparaten voor alle locaties.

Tabel 13 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: resultaten van de nauwkeurigheid van de preparaten

Nauwkeurigheid van de preparaten (aantal patiënten: 9.046)	Met PrepStain [®] geprepareerd SurePath [®] - objectglaasje		Conventioneel geprepareerd objectglaasje	
	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
artefact als gevolg van drogen aan de lucht	0	0	17	0,2
dik uitstrijkje	1	< 0,1	0	0
afdekking door bloed	53	0,6	121	1,3
afdekking door ontsteking	102	1,1	310	3,4
weinig squameuze epitheelcellen	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 evaluatie:	54	0,6	89	1,0
ontbreken van endocervicale component	42	0,5	42	0,5
artefact als gevolg van drogen aan de lucht	0	0	0	0
dik uitstrijkje	0	0	2	< 0,1
afdekking door bloed	7	0,1	6	0,1
afdekking door ontsteking	6	0,1	6	0,1
weinig squameuze epitheelcellen	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 behoorden tot meer dan een categorie.

Additionele ongeschikte gevallen werden bepaald door de referentiepatholoog; het totale aantal ongeschikte resultaten staat in tabel 15. Legenda tabel: SAT = toereikend, SBLB = toereikend maar beperkt door (gespecificeerde conditie) en UNSAT = ontoereikend.

Tabel 14 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: Samenvatting van de resultaten voor de nauwkeurigheid van de preparaten voor alle klinische testlocaties

Conventioneel geprepareerd objectglaasje					
Met PrepStain [®] geprepareerd SurePath [®] - objectglaasje	SAT			SBLB	
	SAT			SBLB	
	SAT			SBLB	
	SAT			SBLB	
	5.868	1.693	46	7.607	
	579	772	34	1.385	
	21	24	9	54	
	6.468	2.489	89	9.046	

UNSAT: resultaat van McNemar-toets X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: resultaat van McNemar-toets X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

Tabel 14 toont resultaten van een vergelijking van de nauwkeurigheid van preparaten voor beide preparatiemethoden. Er waren significant minder UNSAT- en SBLB-gevallen met SurePath[®]-objectglaasjes dan met de conventionele objectglaasjes.

Tabel 15 Eerste ‘split-sample’-onderzoek: Vergelijking van ontoereikende resultaten van de klinische testlocaties en de referentielocatie

Conventioneel geprepareerd objectglaasje					
Met PrepStain [®] geprepareerd SurePath [®] - objectglaasje	SAT			UNSAT	
	SAT			UNSAT	
	SAT			UNSAT	
	SAT			UNSAT	
	8.807	151	8.958		
	70	18	88		
	8.877	169	9.046		

Resultaat van McNemar-toets X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

Tabel 15 toont de vergelijking van de geschikte en niet-geschikte preparaten van de evaluaties van zowel de testlocaties als de referentielocatie. SurePath[®]-objectglaasjes tonen een statistisch significante reductie van de niet-geschikte gevallen ten opzichte van de conventionele objectglaasjes.

Tabel 16 Resultaten voor de nauwkeurigheid van preparaten per locatie — SBLB-aantallen voor ontbreken van endocervicale component (ECC)

Locatie	Gezellen	SurePath [®] -SBLB geen ECC N (%)	Conventionele SBLB geen 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)
Alle locaties	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

De detectie van endocervicale cellen (tabel 16) varieerde op verschillende testlocaties. Over het algemeen was er een verschil van 1,8% in de detectie van endocervicale cellen tussen het conventionele uitstrijkje en de SurePath[®]-methode, wat overeenkomt met eerdere onderzoeken waarbij gebruik werd gemaakt van de ‘split-sample’-methode.^{16,17}

SurePath[®]-objectglaasjes geproduceerd met behulp van het PrepStain[®]-systeem gaven vergelijkbare resultaten als conventionele uitstrijkjes in ‘split-sample’-vergelijkingen voor een verscheidenheid aan patiëntpopulaties en laboratoriumopstellingen. Bovendien waren er aanzienlijk minder ontoereikende en SBLB-gevallen met SurePath[®]-objectglaasjes dan met conventionele uitstrijkjes. Het SurePath[®]-objectglaasje kan dus worden gebruikt als vervanging voor het conventionele uitstrijkje voor de detectie van atypische cellen, precancereuze laesies, baarmoederhalskanker en alle overige cytologische categorieën die zijn gedefinieerd door het Bethesda-systeem.

EVALUATIE VAN DE PREPARATIE VAN SUREPATH®-OBJECTGLAASJES MET BEHULP VAN DE PREPMATE®-METHODE EN DE HANDMATIGE METHODE

TriPath Imaging heeft een prospectief, multicentrisch, klinisch onderzoek uitgevoerd om twee wijzigingen op de door de FDA goedgekeurde procedure voor het prepareren van SurePath®-objectglasjes, te evalueren. De wijzigingen op het goedgekeurde proces voor het prepareren van SurePath®-objectglasjes waren:

- De toevoeging van het PrepMate®-accessoire (PrepMate®-methode), waarmee de initiële handmatige stappen van het PrepStain®-laboratoriumproces worden geautomatiseerd. De PrepMate® mengt en verwijdert het monster automatisch uit de SurePath® Preservative Vials (conserveerpotjes) en brengt het monster in laagjes aan op PrepStain® Density Reagent (dichtheidsreagens) in een testbuisje.
- De toevoeging van de handmatige methode, waarbij de celsuspensie handmatig in laagjes wordt aangebracht op het objectglasje en door een laborant wordt gekleurd, in plaats van het PrepStain®-instrument te gebruiken voor celsuspensie en het kleuren van het objectglasje.

Tijdens dit onderzoek werden meer dan 400 gevallen geëvalueerd in een gemaskeerde evaluatie van de twee alternatieve methoden voor de momenteel goedgekeurde procedure voor het prepareren van SurePath®-objectglasjes. De vergelijking werd gebaseerd op morfologische en kwalitatieve criteria die werden toegepast op de objectglasjes die volgens beide methoden werden geprepareerd.

De primaire doestellingen van het onderzoek waren:

- de morfologische en kwalitatieve aspecten evalueren van SurePath®-objectglasjes geprepareerd met de PrepMate®-methode in vergelijking met glasjes geprepareerd volgens de goedgekeurde methode van het PrepStain®-systeem (waarnaar wordt verwezen als de PrepStain®-methode);
- de morfologische en kwalitatieve aspecten evalueren van SurePath®-objectglasjes geprepareerd met de handmatige methode in vergelijking met glasjes geprepareerd volgens de goedgekeurde PrepStain®-methode.

Bijkomende doelstellingen van het onderzoek waren:

- bepalen of de mate van overeenstemming tussen de goedgekeurde PrepStain®-methode en de PrepMate®-methode groter was dan alleen op basis van toeval verwacht zou kunnen worden;
- bepalen of de mate van overeenstemming tussen de goedgekeurde PrepStain®-methode en de handmatige methode groter was dan alleen op basis van toeval verwacht zou kunnen worden;
- de nauwkeurigheid van het monster beoordelen volgens de normen van het PrepStain®-systeem voor het prepareren van SurePath®-objectglasjes met behulp van de PrepMate®-methode;
- de nauwkeurigheid van het monster beoordelen volgens de normen van het PrepStain®-systeem voor het prepareren van SurePath®-objectglasjes met behulp van de handmatige methode.

PREPMATE®-ACCESSOIRE

De PrepMate® is een accessoire van het PrepStain®-systeem waarmee twee handmatige stappen — het mengen en het in laagjes aanbrengen van het monster — van het PrepStain®-laboratoriumproces worden geautomatiseerd. De PrepMate® mengt het monster grondig, verwijdert het nauwkeurig uit de SurePath® Preservative Vials (conserveerpotjes) en brengt het monster in laagjes aan op PrepStain® Density Reagent (dichtheidsreagens) in een testbuisje. Een monsterrekje met monsterpotjes, injectiepipetten en testbuisjes (met de dichtheidsvloeistof) wordt in de instrumenthouder geplaatst. Het rek bevat maximaal twaalf potjes, buisjes en injectiepipetten (drie rijen met vier exemplaren van elk). Potjes, injectiepipetten en buisjes zijn bedoeld voor eenmalig gebruik. Ze mogen slecht één keer worden gebruikt om de mogelijkheid van besmetting van de monsters te voorkomen.

HANDMATIGE METHODE

De handmatige methode maakt gebruik van een handmatige procedure om de celsuspensie in laagjes aan te brengen op de objectglasjes en om het preparaat te kleuren. De gynaecologische monsterafname en -verwerking zijn identiek voor zowel de handmatige als de goedgekeurde PrepStain®-methode, met uitzondering van het gebruik van het PrepStain®-instrument.

Bij de PrepStain®-methode worden gecentrifugeerde celpelleten direct op het PrepStain®-instrument geplaatst voor geautomatiseerde verwerking om gekleurde SurePath®-objectglasjes te verkrijgen.

Bij de handmatige methode wordt gedeïoniseerd water toegevoegd aan de gecentrifugeerde celpellet, gevolgd door het mengen met de vortexer om het monster te resuspenden en randomiseren. Het monster wordt overgebracht naar een bezinkkamer die op een SurePath® PreCoat-objectglasje is aangebracht. Nadat het monster is neergeslagen op het objectglasje, wordt het monster gekleurd door middel van een Papanicolaou-batchkleuringsprocedure.

TOEREKENBAARHEID VAN OBJECTGLAASJES

Tabel 17 toont de toerekenbaarheid van de objectglasjes tijdens het klinische onderzoek. Het is belangrijk te vermelden dat de onderzoekset uit drie objectglasjes per geval bestond.

Tabel 17 Toerekenbaarheid van objectglasjes

	Gevallen	Glasjes
Totaal aantal opgenomen in onderzoek	471	1.413
Totaal aantal uitgesloten van analyse	-68	-204
Documentatie niet volledig	-39	-117
Objectglasjes onjuist geprepareerd	-24	-72
Andere redenen voor uitsluiting *	-5	-15
Totaal aantal opgenomen in analyse	403	1.209

* Ontbrekende monsters, dubbele patiëntnummers enzovoort

DEMOGRAFISCHE GEGEVENS VAN DE POPULATIE

Tabel 18 bevat de demografische patiëntleeftijd voor alle gevallen die zijn opgenomen in de onderzoekspopulatie.

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 bevat de huidige klinische informatie en tabel 20 bevat de klinische voorgeschiedenis voor alle gevallen die zijn opgenomen in de onderzoekspopulatie. Houd er rekening mee dat meer dan een item mocht worden geselecteerd, zodat de totalen niet overeenkomen met het totale aantal gevallen in de onderzoekspopulatie.

Tabel 19 Huidige klinische informatie

Klinische informatie	Aantal gevallen
Cyclisch	241
Onregelmatige cyclus	69
Hysterectomie	16
Zwanger	9
Na miskraam	0
Postnataal	9
Postmenopauzaal	58
Perimenopauzaal	1
Immunodepressie	0
Abnormale GYN-presentatie	0
Vaginale afscheiding	137
Oestrogeensuppletie therapie	19
Spiraaltje	2
Orale contraceptie/implantaat	20
Geen geboorteregeling	181
Informatie niet beschikbaar	22

Tabel 20 Klinische voorgeschiedenis

Voorgeschiedenis	Aantal gevallen
Eerdere abnormale cytologie	13
Voorgeschiedenis van abnormale bloedingen	36
Biopsie	3
Voorgeschiedenis van kanker	1
Chemotherapie	0
Bestraling	0
Colposcopie	9
HIV/AIDS	0
HPV (wrattenvirus)	0
Herpes	1
Voorgeschiedenis van BTL*	1
Voorgeschiedenis van PID**	57
Geen vermeld	363

* Bilateral tubal ligation = beide eileiders afgebonden

* Pelvic inflammatory disease = ontsteking in het kleine bekken/eileiderontsteking

ONDERZOEKSRESULTATEN

Het doel van dit onderzoek was te bepalen of SurePath®-objectglaasjes die werden geprepareerd door middel van de PrepMate®-methode en de handmatige methode, beter waren dan objectglaasjes die werden geprepareerd door middel van de goedgekeurde PrepStain®-methode. De klinische gegevens tonen aan dat de objectglaasjes die werden geprepareerd door middel van de PrepMate®-methode en de handmatige methode vergelijkbaar zijn in morfologie en kwaliteit met de objectglaasjes die werden geprepareerd met de goedgekeurde PrepStain®-methode.

De klinische gegevens tonen bovendien aan dat de diagnostische prestatie gelijk is voor zowel de PrepMate®-methode en de handmatige methode als de goedgekeurde PrepStain®-methode. Verder verschilt de nauwkeurigheid van de objectglaasjes die werden geprepareerd door middel van de PrepMate®-methode en de handmatige methode, niet van de nauwkeurigheid van de objectglaasjes die werden geprepareerd met de goedgekeurde PrepStain®-methode. Deze bevindingen ondersteunen de vergelijkbaarheid van de PrepMate®-methode en de handmatige methode met de goedgekeurde PrepStain®-methode.

MORFOLOGIE EN KWALITEIT VAN DE MONSTERS

Tabel 21 toont de resultaten voor de primaire doelstellingen. De aanvaardbaarheid van de objectglaasjes die werden geprepareerd volgens de verschillende methoden, werd geëvalueerd volgens de morfologie- en kwaliteitscriteria die in de tabel worden genoemd. Voor elk criterium werd het aandeel aanvaardbare objectglaasjes berekend samen met het bijbehorende betrouwbaarheidsinterval van exact 95%.

Tabel 21 Vergelijking van percentages en betrouwbaarheidsintervallen (CI) voor aanvaardbaarheidscriteria

Preparatiemethode voor objectglaasjes							
		PrepStain®		PrepMate®		Handmatige methode	
		Percentage (n/N)	Exact 95% CI	Percentage (n/N)	Exact 95% CI	Percentage (n/N)	Exact 95% CI
Aanvaardbaarheidscriteria	Kleurings	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
	Kernaspecten	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
	Cellulariteit	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Het aanvaardbaarheidspercentage voor de PrepMate®-methode en de handmatige methode is bijna altijd gelijk aan of groter dan dat voor de PrepStain®-methode. Bovendien overlapt het betrouwbaarheidsinterval van exact 95% voor de PrepMate®-methode en de handmatige methode in aanzienlijke mate het betrouwbaarheidsinterval van de goedgekeurde PrepStain®-methode voor elk criterium. Dit wijst erop dat de objectglaasjes die zijn geprepareerd door middel van de PrepMate®-methode en de handmatige methode, vergelijkbaar zijn in morfologie en kwaliteit met de objectglaasjes die zijn geprepareerd met de goedgekeurde PrepStain®-methode. Daarom is de kwaliteit van het preparaat gelijk voor de goedgekeurde methode en de twee testmethoden.

DIAGNOSTISCHE OVEREENSTEMMING

Deze analyse vergelijkt de diagnoses voor de objectglaasjes geprepareerd volgens elke methode. Omdat deze gegevens worden afgeleid van gesplijste monsters, zijn de diagnosematrices uit tabel 22 en tabel 23 gebaseerd op gekoppelde monsters, waarbij elk van de testpreparatiemethoden voor de objectglaasjes (PrepMate® en handmatige methode) wordt vergeleken met de goedgekeurde PrepStain®-methode. Idealiter is de diagnose die wordt verkregen van objectglaasjes die zijn geprepareerd volgens twee methoden, gelijk. Dit wordt weergegeven door het aantal objectglaasjes met een identieke diagnose; deze staan op de hoofddiagonaal van elke tabel.

De eerste overeenstemmingsmeetwaarde is de verhouding van de objectglaasjes op de hoofddiagonaal en het bijbehorende betrouwbaarheidsinterval van exact 95%. De tweede waarde wordt verkregen uit de kappastatistiek, die werd berekend en getoetst voor elke vergelijking. De toets bepaalt of de mate van overeenstemming tussen de twee methoden groter is dan verwacht. Omdat de observaties worden geordend, is het belangrijker observaties te hebben die op of nabij de hoofddiagonaal liggen. De gewogen kappastatistiek geeft meer gewicht aan observaties die op of nabij de hoofddiagonaal in de tabellen liggen.

VERGELIJKING VAN DE GOEDGEKEURDE PREPSTAIN®- EN PREPMATE®-METHODEN

In tabel 22 is het aantal objectglaasjes op de hoofddiagonaal 367 (2+334+8+6+5+11+1) en is het aandeel van de objectglaasjes op de hoofddiagonaal 0,9107 (367/403) met een betrouwbaarheidslimiet van exact 95% van 0,8785 tot 0,9366.

Als niet-geschiedte objectglaasjes worden uitgesloten van de tabel door de eerste rij en eerste kolom te verwijderen, dan blijven er 397 objectglaasjes over. Het aandeel van de objectglaasjes op de hoofddiagonaal is 0,9194 (365/397) met een betrouwbaarheidslimiet van 95% van 0,8881 tot 0,9442.

De resultaten in tabel 22 geven aan dat de goedgekeurde PrepStain®-methode en de PrepMate®-methode een groot aandeel objectglaasjes hebben met diagnostische overeenstemming, zoals aangegeven door het aandeel objectglaasjes op de hoofddiagonaal in de tabel. Bovendien geeft de gewogen kappa-analyse aan dat de overeenstemming veel groter was dan alleen aan het toeval kan worden toegewezen.

Tabel 22 Kruistabel van diagnoses door middel van de PrepStain®-methode en de PrepMate®-methode

Diagnose van de PrepStain®-methode										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypisch	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totaal
Diagnose van de PrepMate®-methode	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
	Atypisch	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
	Totaal	5	348	12	17	9	11	0	0	1

VERGELIJKING VAN DE GOEDGEKEURDE PREPSTAIN®- EN HANDMATIGE METHODEN

In tabel 23 bedraagt het aantal objectglaasjes op de hoofddiagonaal 353 (3+315+6+10+7+11+1). Het aandeel objectglaasjes op de hoofddiagonaal is 0,8759 (353/403). De exacte binomiale betrouwbaarheidslimiet van 95% voor dit aandeel bedraagt 0,8397 tot 0,9065.

Als niet-geschiedte objectglaasjes worden uitgesloten van de tabel door de eerste rij en eerste kolom te verwijderen, dan blijven er 398 objectglaasjes over. Het aandeel van de objectglaasjes op de hoofddiagonaal is 0,8794 (350/398) met een betrouwbaarheidslimiet van 95% van 0,8433 tot 0,9097. De resultaten in tabel 23 geven aan dat de goedgekeurde PrepStain®-methode en de handmatige methode een groot aandeel objectglaasjes hebben met diagnostische overeenstemming, zoals aangegeven door het aandeel objectglaasjes op de hoofddiagonaal in de tabel. Bovendien geeft de gewogen kappa-analyse aan dat de overeenstemming veel groter was dan alleen aan het toeval kan worden toegewezen. Daarom zijn de diagnostisch prestaties gelijk voor de goedgekeurde methode en de twee testmethoden.

Tabel 23 Kruistabel van diagnoses door middel van de PrepStain®-methode en de handmatige methode

Diagnose van de PrepStain®-methode										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypisch	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totaal
Diagnose van de handmatige methode	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
	Atypisch	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
	Totaal	5	348	12	17	9	11	0	0	1

GESCHIKTHEID VAN DE OBJECTGLAASJES

De geschiktheid van de objectglaasjes werd beoordeeld voor elk van de preparatiemethoden. De gegevens werden geanalyseerd met behulp van een tweezijdige McNemar-toets.¹⁸

Tabel 24 toont de geschiktheidsresultaten bij het vergelijken van de goedgekeurde PrepStain®-methode met de PrepMate®-methode.

Tabel 24 Geschiktheidsresultaten voor objectglaasjes geprepareerd met de PrepMate[®]-methode en de PrepStain[®]-methode

Resultaten voor de PrepStain®-methode				
Resultaten voor de PrepMate®- methode	SAT of SBLB		UNSAT	
	UNSAT			
	SAT of SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

Tabel 25 toont de geschiktheidsresultaten bij het vergelijken van de goedgekeurde PrepStain[®]-methode met de handmatige methode.

Tabel 25 Geschiktheidsresultaten voor objectglaasjes geprepareerd met de handmatige methode en de PrepStain[®]-methode

Resultaten van de PrepStain®-methode				
Resultaten voor de handmatige methode	SAT of SBLB		UNSAT	
	UNSAT			
	SAT of SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

Deze twee vergelijkingen tonen aan dat de PrepMate[®]-methode en de handmatige methode wat betreft de geschiktheid van de objectglaasjes niet verschillen van de goedgekeurde PrepStain[®]-methode.

‘DIRECT-TO-VIAL’-ONDERZOEK

Volgend op de initiële goedkeuring van de FDA van het PrepStain[®]-systeem heeft TriPath Imaging een groot, multicentrisch onderzoek uitgevoerd naar het PrepStain[®]-systeem wanneer dit wordt gebruikt als bedoeld met ‘direct-to-vial’-monsters. In eerdere klinische onderzoeken werd gebruik gemaakt van een ‘split-sample’-methode, waarbij het monster eerst werd gebruikt om een conventioneel uitstrijkje te maken en het resterende monster in SurePath[®]-afnamevloeistof werd geplaatst en werd verwerkt met het PrepStain[®]-systeem om een SurePath[®]-objectglaasje te maken. Het is duidelijk vastgesteld dat bij een ‘split-sample’-opzet de ware prestaties van de test die wordt geprepareerd uit het resterende celmateriaal, onderschat worden.¹²

Dit onderzoek vergeleek de prestaties van de SurePath[®]-objectglaasjes die werden geproduceerd met ‘direct-to-vial’-monsters, met conventionele uitstrijkjes. De resultaten die werden verkregen met SurePath[®], werden vergeleken met de resultaten die werden verkregen uit een historische cohort van conventionele uitstrijkjes. Tijdens dit onderzoek werd met name gekeken of SurePath[®]-objectglaasjes de detectie van hoogwaardige squameuze intra-epitheliale laesies (HSIL), adenocarcinomen in situ en kanker (HSIL+) verbeterden. Alle beschikbare biopsiegegevens werden verzameld voor de populaties van beide objectglaasjes.

De SurePath[®]-populatie bestond uit 58.580 objectglaasjes die prospectief werden verzameld bij 57 klinieken die bijna 100% van de verzameling conventionele uitstrijkjes hadden omgezet in een SurePath[®]-monsterverzameling. De monsters die door deze klinieken werden afgenomen, werden naar drie klinische locaties gestuurd voor verwerking.

De conventionele populatie bestond uit 58.988 objectglaasjes van dezelfde klinieken als de SurePath[®]-objectglaasjes. Deze historische populatie werd verzameld door te beginnen met de meest recente objectglaasjes voordat de klinieken overschakelden op SurePath[®], en vervolgens terug te gaan in de tijd tot de groep conventionele objectglaasjes en de groep SurePath[®]-objectglaasjes op elke klinische locatie qua aantal ongeveer even groot waren.

De resultaten van dit onderzoek toonden een detectiepercentage van 405/58.580 voor de SurePath[®]-objectglaasjes ten opzichte van 248/58.988 voor de conventionele objectglaasjes, wat resulteerde in detectiepercentages 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 de detectie van HSIL+-laesies voor de SurePath[®]-objectglaasjes.

Tabel 26 Vergelijking van detectiepercentages per locatie

Locatie	Conventioneel			SurePath [®]		
	Totaal	HSIL+	Percentage (%)	Totaal	HSIL+	Percentage (%)
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+	Percentage (%)	Totaal	LSIL+	Percentage (%)
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+	Percentage (%)	Totaal	ASCUS+	Percentage (%)
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 (UNSAT)

Locatie	Conventioneel			SurePath [®]		
	Totaal	UNSAT+	Percentage (%)	Totaal	UNSAT+	Percentage (%)
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: er wordt verwacht dat de prestaties per locatie zullen verschillen. Elk laboratorium moet de kwaliteit van het eigen werk controleren.

PROCEDURE

Volledige procedures voor het prepareren van SurePath[®]-objectglaasjes zijn te vinden in de gebruikershandleiding van het PrepStain[®]-systeem.

LITERATUURLIJST

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NAAM EN LOCATIE VAN BEDRIJF

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 VS

EC REP

Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Indlægseddell til PrepStain®-systemet

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

TILSIGTET BRUG

PrepStain®-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 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}

SurePath® Preservative Fluid (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) er et egnet indsamlings- og transportmedium til gynækologiske prøver, der er testet med BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ og *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ amplifieret DNA-analyser.

Neisseria gonorrhoeae (GC) Q⁺ amplifieret DNA-analyse. Se indlægseddellerne til analyserne for at få oplysninger om, hvordan SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) bruges til at klargøre prøver til brug med disse analyser.

RESUMÉ OG FORKLARING AF PROCEDUREN

PrepStain®-systemet konverterer en flydende suspension af en cervical celleprøve til et adskilt farvet, homogent tyndt lag celler, medens diagnostiske celleklynger bibeholdes.²⁻⁹ Processen omfatter cellekonservering, randomisering, berigelse af diagnostisk materiale, pipettering, sedimentering, farvning og anbringelse af dækglas 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 inden for en cirkel på 13 mm i diameter. Lufttørningsartefakter, 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 epitelceller, diagnostisk relevante celler og infektiøse organismer.

BD SurePath®-processen begynder med, at uddannet medicinsk personale tager en gynækologisk prøve ved hjælp af en anordning til prøvetagning af børstetypen (f.eks. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Nederlandene) eller en endocervikal børste/plastspatel (f.eks. Cytobrush® Plus GT and Pap Perfect® spatula, Medscand (USA) Inc., Trumbull, CT) med aftageligt hoved. I stedet for at udstryge celler indsamlet med anordninger til prøvetagning på et objektglas adskilles hele anordningens hoved fra håndtaget og anbringes i et hætteglas med SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske). Der sættes låg og etiket på hætteglasset, som sendes med tilhørende dokumenter til laboratoriet til behandling. Hovedet på en prøvetagningsanordning må aldrig tages af et hætteglas med en indsamlet prøve.

På laboratoriet blandes den konserverede prøve efter vortex-metoden* og overføres derefter til PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens). Et berigelsestrin, der omfatter centrifugal sedimentering gennem densitetsreagens, fjerner delvis ikke-diagnostisk debris og overskydende inflammatoriske celler fra prøven. Efter centrifugering bliver kugleformede celler resuspenderet, blandet og overført til et PrepStain® Settling Chamber (bundfældningskammer) monteret på et SurePath® PreCoat-objektglas. Cellerne sedimenteres ved tyngdekraft, hvorefter de bliver farvet ved hjælp af en modificeret Papanicolaou-farvningsprocedure. Objektglasset renses med xylene eller en xyleneerstatning og forsynes med dækglas. Celler, der forekommer inden for en cirkel på 13 mm, undersøges under mikroskop af uddannede cytoteknikere og patologer med adgang til anden relevant baggrundsinformation om patienten.

* Bemærk: Til ekstra test kan aliquoten på op til 0,5 mL udtages efter dette omrystningsstrin i SurePath® LBC-testprocessen.

BEGRÆNSNINGER

- Gynækologiske prøver til præparater, der anvender PrepStain®-systemet, skal indsamles ved brug af en børstelignende prøvetagningsanordning eller en endocervikal børste/plastspatel med aftageligt hoved i henhold til den procedure for prøvetagning, som producenten har angivet. Træspatler må ikke bruges sammen med PrepStain®-systemet. En endocervikal børste/plastspatel, der ikke kan afmonteres, må ikke bruges sammen 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®-systemet. Anvendte materialer skal bortskaffes korrekt i henhold til institutionelle og statslige regler.
- Alle materialer er kun beregnet til engangsbrug og kan ikke genbruges.
- Der kræves en mængde på 8,0 ± 0,5 mL af den prøve, som er indsamlet i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske), til behandling af SurePath® LBC-testen.

Reagenser



Til in vitro-diagnostisk brug. Kun til laboratoriebrug.

Advarsler



SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) indeholder en vandig opløsning af denatureret ethanol. Blandingen indeholder små mængder methanol og isopropanol. Må ikke indtages.



PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens) indeholder natriumazid. Må ikke indtages. Natriumazid kan reagere med bly- eller kobberørg og danne yderst eksplosive metalazider. Ved bortskaffelsen skylles med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid. For yderligere oplysninger henvises til publikation DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13, udsendt af Centers for Disease Control. Se webstedet: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG-kombinationscytologifarve indeholder alkohol. Giftig ved indtagelse. Undlad at indånde dampe. Anvend passende ventilation. Undgå kontakt med øjne og hud. Meget brandfarlig.

FORHOLDSREGLER

- God laboratoriepraksis bør følges, og alle procedurer for brugen af PrepStain®-systemet bør nøje overholdes.
- Reagenser bør opbevares ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C) og anvendes inden deres udløbsdato for at sikre korrekt ydeevne. Opbevaringsbetingelserne for SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) uden cytologiske prøver er op til 36 måneder fra fremstillingsdatoen ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C). Opbevaringsgrænsen for SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) med cytologiske prøver er 6 måneder ved køleskabstemperatur (2 °C til 10 °C) eller 4 uger ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) indeholdende cytologiske prøver, der er beregnet til brug med BD ProbeTec™ CT Q⁺ og GC Q⁺ amplifieret DNA-analyser, kan opbevares og transporteres i op til 30 dage ved 2 °C – 30 °C, inden de overføres til fortyndingsglassene til væskebaserede cytologiske prøve (LBC) til BD ProbeTec™ Q⁺ amplifieret DNA-analyser.
- Undgå plasken eller generering af aerosoler. Brugere bør anvende passende hånd-, øjen- og beklædningsbeskyttelse.
- SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) blev testet for antimikrobiel virkning overfor: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* og *Aspergillus niger* og blev fundet effektiv. SurePath®-konserveringsprøver inokuleret med 10⁶ CFU/mL organismer af hver art gav ingen vækst efter inkubation under standardbetingelser i 14 dage (28 dage for *Mycobacterium tuberculosis*). Universelle forsigtighedsregler for sikker håndtering af biologiske væsker skal imidlertid altid overholdes.
- Manglende overholdelse af de anbefalede procedurer som angivet i brugervejledningen for PrepStain®-systemet kan forringe ydeevnen.

VALGFRI UDTAGNING AF ALIQUOT

- Der er en tilstrækkelig mængde i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) til, at man kan udtage op til 0,5 mL homogen blanding af celler og væske til ekstra test inden udførelse af SurePath®-PapTesten og stadig have en tilstrækkelig mængde tilbage til være i stand til at foretage en PapTest.
- Der er ingen beviser for, at udtagning af en aliquot fra SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) påvirker kvaliteten af prøven til cytologisk test, men der kan i sjældne tilfælde forekomme fejlallokering af vigtigt diagnostisk materiale i forbindelse med denne proces. Sundhedspersonalet kan være nødt til at tage en ny prøve, hvis resultaterne ikke korrelerer med patientens kliniske baggrund. Derudover omfatter cytologi andre kliniske områder end test for seksuelt overførte sygdomme, hvilket betyder, at aliquotudtagning ikke nødvendigvis er velegnet i forbindelse med alle kliniske situationer. Om nødvendigt kan der udtages en separat prøve til test for seksuelt overførte sygdomme i stedet for at udtage en aliquot fra SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske).
- Udtagning af aliquoter fra prøver med lav celleholdighed kan betyde, at der er for lidt materiale i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) til klargøring af en tilfjedsstillende SurePath®-PapTest.
- Aliquot skal udtages, inden SurePath®-PapTesten behandles. Der må kun udtages én aliquot fra SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske), inden PapTest-processen udføres, uanset hvor stor en mængde aliquoten indeholder.

Procedure

- For at sikre en homogen blanding skal SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) omrystes i 10-20 sekunder, og aliquoten på 0,5 mL skal udtages inden for ét minut efter omrystningen.
- Til udtagningen af aliquoten skal der anvendes en polypropylenpipettespids med aerosolfilter, som har en passende størrelse i forhold til den mængde, der skal udtages. *Bemærk:* Der må ikke anvendes serologiske pipetter. God laboratoriepraksis skal følges for at forhindre, at der indføres forurenende stoffer i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) eller i aliquoten. Udtagning af aliquoten skal udføres på et passende sted uden for et område, hvor der udføres amplifikation.

3. Undersøg aliquotmaterialet visuelt i pipetten for tegn på store partikler eller halvfast stoffer. Hvis der findes tegn på sådanne materialer under udtagning af aliquoten, bør alt materialet returneres til prøvehætteglasset, og prøven diskvalificeres til ekstra test inden udførelsen af PapTest.
4. Oplysninger om behandling af aliquoten ved hjælp af BD ProbeTec™ CT Q⁺ og GC Q⁺ amplifieret DNA-analyse findes på indlægssedlerne fra producenten af analysen.

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).

Vedlagte materialer

- PrepStain®-instrument
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske) (inkluderer SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske))
- Cervikal prøvetagningsanordning med aftageligt hoved
- PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens)
- PrepStain® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter)
- PrepStain® Settling Chambers (bundfældningskamre)
- Cytologi-farvningskit
- SurePath® PreCoat-objektglas
- Centrifugeglas
- Racks til objektglas og glas
- Engangsoverførings- og sugespids

Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

- Vortex Mixer
- Deioniseret vand (pH 7,5 til 8,5)
- Isopropanol og alkohol af reagenttype
- Klareringsmiddel, monteringsmedia og dækglasser

Opbevaring

Opbevaringsbetingelserne for SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) uden cytologiske prøver er op til 36 måneder fra fremstillingsdatoen ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C).

Grænsen for opbevaring af SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) med cytologiske prøver er 6 måneder ved køleskabstemperatur (2 °C til 10 °C) eller 4 uger ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C).

SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) indeholdende cytologiske prøver, der er beregnet til brug med BD ProbeTec™ CT Q⁺ og GC Q⁺ amplifieret DNA-analyse, kan opbevares og transporteres i op til 30 dage ved 2 °C – 30 °C, inden de overføres til fortyndingsglassene til væskebaserede cytologiske prøve (LBC) til BD ProbeTec™ Q⁺ amplifieret DNA-analyse.

DIAGNOSTISK FORTOLKNING OG PRÆPARATILSTRÆKKELIGHED

Efter TriPath-autoriseret brugeruddannelse i PrepStain®-systemet og SurePath®-objektglas gælder de cytologiske diagnosticeringskriterier i Bethesda System, der aktuelt anvendes i cytologilaboratorier for konventionelle Pap smears, for SurePath®-objektglas.¹ Nye retningslinjer, der anbefales i Bethesda 2001-rapporteringssystemet, omhandler væskebaserede præparater og definerer, hvordan tilstrækkelig cellularitet bestemmes specifikt for disse præparater.

Ved fravær af unormale celler betragtes et præparat som utilfredsstillende, hvis en eller flere af følgende betingelser er til stede:

- (1) Utilstrækkeligt antal diagnostiske celler (færre end 5.000 pladeepitelceller 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, når det foretrukne okular og 40x-objektivet anvendes. Alternativt beregnes feltets areal ved brug af et hæmocytometer eller tilsvarende måleskala for mikroskopobjektglas (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 celledækningsareal for SurePath®-objektglasset med feltarealet for det specifikke mikroskop. Det resulterende tal divideres derefter med celleminimummet på 5.000. Det resulterende tal er det anbefalede minimale gennemsnitsantal for epitelceller i synsfeltet på 40x-objektiv. Skriv dette antal ned, og opbevar det til brug som rutine-reference for cytoteknikeren. Retningslinjerne i Bethesda 2001 angiver det omtrentlige antal celler pr. felt for et 13 mm-præparat.
- Mindst 10 felter skal tælles vandret og lodret langs centrum i præparatets diameter.
 - Som en praktisk måde til at bedømme cellularitet kan makroskopisk evaluering af den visuelle tæthed af det farvede præparat anvendes til at kontrollere tilstrækkeligheden af kørsler af præparatproduktionen. 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 udelukker cytologisk fortolkning af objektglasset.

Alle unormale eller tvivlsomme screeningsobservationer bør henvises til en patolog til gennemsyn og diagnose. Patologen skal notere alle diagnostisk signifikante cellemorfologiske ændringer.

YDELSSEKARAKTERISTIKA: 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, præ-cancerøse læsioner og atypiske celler hos forskellige patientpopulationer og laboratorieforhold. Tilstrækkelighed blev også vurderet for begge præpareringer.

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 Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske).

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 forsøgssted evaluerede en patolog alle unormale objektglas.

I overensstemmelse med Shatzkin-metoden¹¹ 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 forsøgsstederne 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, idet 772 var 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 %), afroamerikanere (30 %), asiater (12 %), latin-amerikanere (10 %), indfødte amerikanere (3 %) og andre (1 %).

Udelukkelser 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 præ-cancerøs 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 forsøgssteder. Af disse 9.046 tilfælde opfyldte 8.807 kravene i Bethesda System for præparat tilstrækkelighed og var 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 præparattyper blev klassificeret i henhold til kriterierne i Bethesda System. Undersøgellesprotokollen 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 for de to metoder for objektglaspræparering 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 præpareringsmetoder sammenlignet.

Tabel 1 viser en direkte sammenligning af alle undersøgelsesstedernes resultater for SurePath®-objektglas versus konventionelle objektglas for de diagnostiske behandlingskategorier inden for 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 forsøgssted								
Forsøgssted nr.	Objektglastype	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 = Konventionelt

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								
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
	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 forsøgssteder for tilfælde benævnt efter referencemetoden som ASCUS/AGUS – Uharmonisk fejlanalyse

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes		Fejl	
	Succes	113	205	318
	Fejl	180	229	409
		293	434	727

Succes = ASCUS/AGUS
Fejl = WNL og Reaktiv/Reparativ

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Fejl, konventionelt: 205
Fejl, SurePath®: 180

Tabel 3 viser resultaterne for tilfælde, som referencepatologen har identificeret som 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/reparativ. 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				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes		Fejl	
	Succes	140	63	203
	Fejl	54	86	140
		194	149	343

Succes = LSIL
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ og ASCUS/AGUS

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
Fejl, konventionelt: 63
Fejl, SurePath®: 54

Tabel 4 viser resultaterne for tilfælde, referencepatologen har identificeret som LSIL. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ og ASCUS/AGUS. Som med ASCUS/AGUS var følsomheden ved de to metoder i split-sample undersøgelsen statistisk ens med en p-værdi over 0,05.

Tabel 5 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultater fra alle forsøgssteder for tilfælde, der betegnes som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL er ikke en fejl) af referencemetoden

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes		Fejl	
	Succes	160	28	188
	Fejl	36	38	74
		196	66	262

Succes = HSIL+
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ & ASCUS/AGUS

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$
Fejl, konventionelt: 28
Fejl, SurePath®: 36

Tabel 5 viser resultaterne for tilfælde, som referencepatologen har identificeret som HSIL+. I denne sammenligning blev LSIL ikke betragtet som en fejl, men i stedet som en afvigelse.^{10,14,15} Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ og ASCUS/AGUS. Følsomhedsanalysen af de uharmoniske fejl viste statistisk ækvivalens 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				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes		Fejl	
	Succes	19	2	21
	Fejl	5	1	6
		24	3	27

Succes = Cancer
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS og LSIL

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Fejl, konventionelt: 2
Fejl, SurePath®: 5

Tabel 6 viser resultaterne (alle forsøgssteder) for tilfælde bedømt til at være cancer af referencemetoden. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ, ASCUS/AGUS og LSIL. Sensitivitetsanalyse af de uharmoniske fejl viste statistisk ækvivalens for metoderne. Disse 27 tilfælde af cancer blev inkluderet i re-evalueringsundersøgelsen. Disse data kan findes i tabel 9.

Tabel 7 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af resultaterne fra alle forsøgssteder for tilfælde benævnt efter referencemetoden som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL blev betragtet som en fejl i denne analyse)

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes		Fejl	
	Succes	94	33	127
	Fejl	67	68	135
		161	101	262

Succes = (HSIL+)
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS og LSIL

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Fejl, konventionelt: 33
Fejl, SurePath®: 67

Tabel 7 viser resultaterne for tilfælde, som referencepatologen har identificeret som HSIL+. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ, ASCUS/AGUS og LSIL. Selv om det ikke er i overensstemmelse med den oprindelige undersøgelsesprotokol¹⁰, blev der udført en statistisk sammenligning af metoderne, hvor LSIL blev betragtet som en diagnostisk fejl over for et tilfælde, som den enkelte, uafhængige referencepatolog havde identificeret som HSIL+. 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 TILFÆLDE AF HSIL+

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 Bethesda System. Disse tilfælde af HSIL+ blev genmaskerede som del af en re-evaluering, der omfattede i alt 2.438 prøver, der var præpareret ved brug af den samme split-sample protokol. Resultater fra forsøgsstederne for de to præpareringer 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®-præpareret SurePath®-objektglas og konventionelt præpareret objektglas) screenet igen af en anden cytotekniker, og nyligt identificerede abnormaliteter blev tilføjet dem, fra den indledende screening. Tre referencecytopatologer 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-evalueringsundersøgelse.

Tabel 8 Re-evalueringsundersøgelse: Uharmonisk fejlanalyse for 209 oprindelige HSIL+-tilfælde re-evalueret efter de mere stringente referencekriterier af tre uafhængige referencepatologer

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes	Fejl		
	Succes	153	26	179
		Fejl	24	6
			177	32

Succes = HSIL+
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS og LSIL

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Fejl, konventionelt: 26
Fejl, SursTM: 24

Tabel 8 viser resultaterne for tilfælde, som referencepatologen har identificeret som HSIL+. Fejl omfatter WNL, reaktiv/reparativ, 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 ækvivalens mellem de to metoder.

Tabel 9 Re-evalueringsundersøgelse: Uharmonisk fejlanalyse for cancertilfælde (HSIL er ikke en fejl; LSIL betragtes som en fejl)

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes	Fejl		
	Succes	32	3	35
		Fejl	3	0
			35	3

Succes = Cancer
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS og LSIL

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Fejl, konventionelt: 3
Fejl, SurePath®: 3

Tabel 9 viser resultaterne for tilfælde bedømt til at være cancer efter den nye referencemetode (alle forsøgssteder). 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 2.097 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-evalueringsundersøgelse: 2097 Direkte sammenligning af forsøgsstedernes resultater – Ingen referencepatolog

Konventionelt præpareret Pap Smear								
PrepStain® - præpareret SurePath® - objektglas		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 2.097 nye tilfælde beskrevet ovenfor blev 77 diagnosticeret som HSIL+ af referencepatologer. Tabel 11 viser sensitivitetsanalyse for disse 77 HSIL+-tilfælde.

Tabel 11 Re-evalueringsundersøgelse: Sammenligning af resultaterne fra alle forsøgssteder for tilfælde benævnt efter referencemetoden som HSIL+ uharmonisk fejlanalyse (LSIL blev betragtet som en fejl i denne analyse)

Konventionelt præpareret objektglas				
PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas	Succes	Fejl		46
		25	21	
	Fejl	21	10	31
		46	31	77

Succes = HSIL+
Fejl = WNL, reaktiv/reparativ ASCUS/AGUS og LSIL

Resultat af McNemar-test: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Fejl, konventionelt: 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 forsøgssteder.

Tabel 12 Første split-sample undersøgelse: Resumé af benigne cellulære ændringer

Beskrivende diagnose (Antal patienter: 8.807)	PrepStain®-præpareret SurePath®-objektglas		Konventionelt præpareret objektglas	
	N	%	N	%
Benigne cellulære ændringer				
*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
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 enten af forsøgsstedet eller referencestedet. Yderligere 239 prøver blev scored "utilfredsstillende" af enten forsøgsstedet eller referencestedet eller begge for enten den ene eller begge præpareringer. 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 Bethesda System-kategorierne, men blev tilføjet igen for sammenligning af præpareringstilstrækkelighed.

Tabel 13 til og med 16 viser resultater for præpareringstilstrækkelighed for alle forsøgssteder.

Tabel 13 Første split-sample undersøgelse: Resultater for præpareringstilstrækkelighed

Præpareringstilstrækkelighed (Antal patienter: 9.046)	PrepStain [®] - præpareret SurePath [®] - objektglas		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
Endocervikal komponent fraværende	1.283	14,2	1.118	12,4
Lufttørringsartefakt	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
Endocervikal komponent fraværende	42	0,5	42	0,5
Lufttørringsartefakt	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 præpareringstilstrækkelighed for alle kliniske forsøgssteder

		Konventionelt præpareret objektglas			
		SAT	SBLB	UNSAT	
PrepStain [®] - præpareret 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 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 præpareringstilstrækkelighed for begge præpareringsmetoder. Der var signifikant færre utilfredsstillende og SBLB tilfælde med SurePath[®]-objektglas sammenlignet med de konventionelle objektglas.

Tabel 15 Første split-sample undersøgelse: Sammenligning af utilfredsstillende resultater fra de kliniske forsøgssteder og referencestedet

		Konventionelt præpareret objektglas		
		SAT	UNSAT	
PrepStain [®] - præpareret SurePath [®] - objektglas	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 præpareringer fra både forsøgssteder og referencestedet. SurePath[®]-objektglas viser en statistisk signifikant reduktion af utilfredsstillende tilfælde sammenlignet med konventionelle objektglas.

Tabel 16 Resultater af præpareringstilstrækkelighed efter sted – SBLB-værdier for ingen endocervikal komponent (ECC)

Laboratorium	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 endocervikale celler (tabel 16) varierede for de forskellige forsøgssteder. Totalt var der en 1,8 % forskel i endocervikal 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:

- Tilføjelsen af PrepMate[®] tilbehør (PrepMate[®] metoden), hvilket automatiserer de indledende manuelle trin af PrepStain[®]-laboratorieprocessen. PrepMate[®] blander og fjerner automatisk prøven fra SurePath[®] Preservative Vials (konserverende hætteglas), og lagdeler prøven på PrepStain[®] Density Reagent (densitetsreagens) i et reagensglas.
- Tilføjelsen 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 laboratorietechniker.

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 to manuelle trin – prøveblanding og aflægning – ved PrepStain[®]-laboratorieprocessen. PrepMate[®] blander grundigt, fjerner nøjagtigt prøven fra SurePath[®] Preservative Vials (konserverende hætteglas), og aflægger prøven på PrepStain[®] Density Reagent (densitetsreagens) i et reagensglas. Et prøvestativ, der i forvejen er fyldt med prøvehætteglas, sprøjtepipetter og reagensglas (indeholdende densitetsvæske) 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 til engangsbrug. 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 cellebrik 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 objektglassene i den kliniske undersøgelse. Det er vigtigt at bemærke, at undersøgelsessættet bestod af tre objektglas pr. tilfælde.

Tabel 17 Objektglasregnskab

	Tilfælde	Objektglas
Totalt antal i undersøgelsen	471	1.413
Totalt antal udelukket fra analyse	-68	-204
Ufuldstændig dokumentation	-39	-117
Objektglas præpareret ukorrekt	-24	-72
Andre udelukkelsesgrunde *	-5	-15
Totalt antal inkluderet i analysen	403	1.209

* Manglende prøver, dobbelte patientnumre etc.

POPULATIONSEMOGRAFI

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 der kunne vælges mere end ét punkt, så de totale antal tilfælde korrelerer evt. 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 prævention	181
Information ikke tilgængelig	22

Tabel 20 Klinisk baggrund

Baggrund	Antal tilfælde
Tidligere abnorm cytologi	13
Tidligere abnorm blødning	36
Biopsi	3
Tidligere cancer	1
Kemoterapi	0
Strålebehandling	0
Kolposkopi	9
HIV/AIDS	0
HPV (vortevirus)	0
Herpes	1
Tidligere BTL*	1
Tidligere PID**	57
Ingen noteret	363

* Bilateral tubal ligering
* Pelvisk inflammatorisk lidelse

UNDERSØGELSENS RESULTATER

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 kriterium blev andelen af acceptable objektglas beregnet sammen med det tilhørende eksakte 95 % konfidensinterval.

Tabel 21 Sammenligning af forhold og konfidensintervaller (CI) for acceptabilitetskriterier

Objektglas-præpareringsmetode							
Acceptabilitetskriterier	PrepStain®		PrepMate®		Manuel metode		
	Forhold (n/N)	Eksakt 95 % CI	Forhold (n/N)	Eksakt 95 % CI	Forhold (n/N)	Eksakt 95 % CI	
	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 for overensstemmelse er andelen af objektglas på hoveddiagonalen og de korresponderende eksakte 95 % konfidensintervaller. Det andet mål for 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 tilfældighed. 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 andelen 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. Andelen 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 tilfældighed alene.

Tabel 22 Krydstabulering af diagnoser med PrepStain®- og PrepMate®-metoderne

		PrepStain®-metodediagnose									
		Utilfreds.	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
PrepMate® metode diagnose	Utilfreds.	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). Andelen 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. Andelen 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 tilfældighed 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®-metodediagnose									
		Utilfreds.	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Manuel metode diagnose	Utilfreds.	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 præpareringsmetoderne. 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® metode		
		SAT eller SBLB	UNSAT	
PrepMate® metodens resultater	SAT eller SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

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® metode		
		SAT eller SBLB	UNSAT	
Den manuelle metodes resultater	SAT eller SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

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 veldokumenteret, at split-sample designs undervurderer testens sande ydeevne, da den er præpareret ud fra tiloversblevent 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, intraepitelliale 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 forsøgsteder 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 forsøgssted

HSIL+

Laboratorium	Konventionelt			SurePath®		
	Total	HSIL+	%	Total	HSIL+	%
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+

Laboratorium	Konventionelt			SurePath®		
	Total	LSIL+	%	Total	LSIL+	%
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+

Laboratorium	Konventionelt			SurePath®		
	Total	ASCUS+	%	Total	ASCUS+	%
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

Laboratorium	Konventionelt			SurePath®		
	Total	UNSAT+	%	Total	UNSAT+	%
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: Variationer i ydeevne forventes mellem forsøgsstederne. Hvert laboratorium skal nøje overvåge kvaliteten af dets arbejde

PROCEDURE

Komplette procedurer for præparation af SurePath®-objektglas gives i brugervejledningen for PrepStain®-systemet.

BIBLIOGRAFI

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



NAVN OG FORRETNINGSADRESSE

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

PrepStain® System – Documentação De Produto

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O PrepStain® System é um processo de preparação de células em camada fina de base líquida. O PrepStain® System produz lâminas SurePath® que se destinam a substituir os esfregões citológicos de ginecologia convencionais. As lâminas SurePath® (anteriormente designadas AutoCytte PREP) destinam-se a ser utilizadas no rastreio e detecção de cancro cervical, lesões pré-cancerosas, células atípicas e todas as outras categorias citológicas definidas pelo Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses (sistema para o diagnóstico citológico de alterações cervico-vaginais).^{1,19}

O SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) constitui um meio de colheita e transporte adequado a amostras ginecológicas testadas com Testes de ADN Amplificados BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Consulte os folhetos informáticos dos testes para obter instruções sobre a utilização do SurePath® Preservative Fluid na preparação de amostras para utilização com estes testes.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO PROCEDIMENTO

O PrepStain® System converte uma suspensão líquida de uma amostra de células cervicais numa camada fina e homogênea de células coradas de modo discreto, mantendo as células agrupadas para diagnóstico.²⁻⁹ O processo inclui preservação celular, amostragem aleatória, enriquecimento do material de diagnóstico, pipetagem, sedimentação, coloração e protecção com uma lamela, para criar uma lâmina SurePath® para utilização no rastreio e classificação citológica de rotina, conforme definido pelo sistema Bethesda.¹ A lâmina SurePath® apresenta uma bem preservada população de células coradas dispostas num círculo com 13 mm de diâmetro. O artefacto ligado à secagem ao ar, a presença de material estranho, bem como a sobreposição de matéria celular e de resíduos, são amplamente eliminados. O número de leucócitos é significativamente reduzido, permitindo uma mais fácil visualização das células epiteliais, das células relevantes para o diagnóstico e dos organismos infecciosos.

O processo SurePath® inicia-se com a utilização, pelo pessoal médico qualificado, de um dispositivo de amostragem do tipo escova (p. ex., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Países Baixos) ou uma combinação escova/espátula de plástico endocervical (p. ex., Cytobrush® Plus GT e espátula Pap Perfect®, Medscand (EUA) Inc., Trumbull, CT) com cabeça(s) amovível, para colheita de uma amostra ginecológica. Em vez de espalhar as células colhidas pelos dispositivos de amostragem numa lâmina de vidro, as cabeças dos dispositivos de amostragem são destacadas do cabo e colocadas num frasco de conservante SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante). O frasco é tapado, etiquetado e enviado com os documentos necessários 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* e depois transferida para o reagente PrepStain® Density Reagent (Reagente de Densidade). Um passo de enriquecimento, que consiste na sedimentação centrífuga através do reagente Density Reagent, remove parcialmente da amostra os resíduos sem valor diagnóstico e as células inflamatórias em excesso. Após a centrifugação, as células agrupadas são novamente suspensas, misturadas e transferidas para uma câmara de incubação PrepStain® Settling Chamber (Câmara de Incubação) montada numa lâmina previamente revestida SurePath® PreCoat (Prevamente Revestida). As células sedimentam por gravidade e depois são coradas utilizando um procedimento de coloração de Papanicolaou modificado. A lâmina é limpa com xilol ou com um substituto de xilol e protegida com uma lamela. As células, dispostas num círculo de 13 mm de diâmetro, são examinadas ao microscópio por técnicos de citologia e patologistas com a formação adequada e com acesso a outras informações relevantes acerca dos antecedentes clínicos da paciente.

* Nota: Para testes auxiliares, a alíquota até um máximo de 0,5 mL deve ser removida após a passagem pelo vórtex no processo de testes SurePath® LBC.

LIMITAÇÕES

- As amostras ginecológicas para preparações que utilizam o PrepStain® System devem ser colhidas utilizando um dispositivo de amostragem do tipo escova ou uma combinação escova/espátula de plástico endocervical com cabeça(s) amovível(s), de acordo com o procedimento de colheita padrão indicado pelo fabricante. Não devem ser utilizadas espátulas de madeira com o PrepStain® System. Combinações escova/espátula plástica endocervical que não sejam amovíveis não devem ser empregues com o PrepStain® System.
- A formação ministrada por pessoal autorizado é essencial para a produção e avaliação de lâminas SurePath®. Os técnicos de citologia e patologistas deverão receber formação em avaliação morfológica nas lâminas SurePath®. A formação deverá incluir um exame de aptidão. Será facultada aos laboratórios clientes a utilização de lâminas e conjuntos de teste para treino. A TriPath Imaging, Inc. também oferece assistência na preparação de lâminas de treino das populações de pacientes específicas de cada cliente.
- O desempenho adequado do PrepStain® System requer a utilização exclusiva de material suportado ou recomendado pela TriPath Imaging, para utilização com o BD PrepStain® System. O material e produto utilizado devem ser correctamente descartados em conformidade com as regulamentações institucionais e governamentais.
- Todo o material se destina a uma única utilização e não pode ser reutilizado.
- Um volume de 8,0 ± 0,5 mL da amostra recolhida no SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) é necessário para o processamento do teste SurePath® LBC.

Reagentes



Para utilização em Diagnóstico In Vitro. Para utilização em laboratório apenas.

Advertências



O conservante SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) contém uma solução aquosa de etanol desnaturado. A mistura contém pequenas quantidades de metanol e isopropanol. Não ingerir.



O reagente PrepStain® Density Reagent (Reagente de Densidade) contém azida de sódio. Não ingerir. A azida de sódio pode reagir com as canalizações de chumbo ou de cobre, formando azidas metálicas altamente explosivas. Ao eliminar o produto, adicionar água abundante para evitar a acumulação de azidas. Para mais informações, consulte a publicação DHHS (NIOSH) N.º 78-127 Current 13, publicada pelos Centers for Disease Control. Visite o site da Internet: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



A coloração citológica de combinação PrepStain® EA/OG contém álcool. Tóxico por ingestão. Não respirar os vapores. Utilizar com a ventilação adequada. Evitar o contacto com a pele e olhos. Facilmente inflamável.

PRECAUÇÕES

- Devem ser adoptadas boas práticas laboratoriais e todos os procedimentos para utilização do PrepStain® System devem ser rigorosamente respeitados.
- Os reagentes devem ser conservados à temperatura ambiente (15 ° a 30 °C) e utilizados antes do final do prazo de validade para garantir um desempenho adequado. A condição de conservação do SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) sem amostras citológicas é de 36 meses, a contar da data de fabrico, à temperatura ambiente (15 ° a 30 °C). O limite de conservação do SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) com amostras citológicas é de 6 meses refrigerado (2 ° a 10 °C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15 ° a 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) que contém uma amostra citológica destinada a utilização com os Testes de ADN Amplificado BD ProbeTec™ CT Q⁺ e GC Q⁺ Amplified DNA Assays podem ser conservados e transportados durante um máximo de 30 dias a temperaturas entre 2° – 30° C antes de serem transferidas para os Tubos de Diluição de Amostras Citológicas de Base Líquida (LBC) para os testes de ADN BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.
- Evite salpicar ou gerar aerossóis. Os operadores devem utilizar equipamento protector adequado para as mãos, olhos e vestuário.
- O conservante SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) foi testado a nível da sua eficácia antimicrobiana contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger* e revelou ser eficaz. As amostras de SurePath® Preservative inoculadas com 10⁶ CFU/ml de cada espécie não obtiveram qualquer crescimento após 14 dias (28 dias no caso da *Mycobacterium tuberculosis*) de incubação em condições padrão. Contudo, devem ser sempre adoptadas precauções universais para o manuseamento seguro de fluidos biológicos.
- O incumprimento dos procedimentos recomendados, tal como descritos no Manual de Utilizador do PrepStain® System, pode comprometer o desempenho.

REMOÇÃO OPCIONAL DE ALÍQUOTAS

- O frasco de colheita SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) dispõe de um volume suficiente para permitir a remoção de até 0,5 mL de mistura homogênea de células e fluidos para testes auxiliares, que antecedem o teste Pap SurePath® Pap Test, ao mesmo tempo que o volume restante é suficiente para a execução do teste Pap.
- Não havendo evidência de que a remoção de uma alíquota a partir do SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) afecta a qualidade da amostra para o teste citológico, poderão ocorrer raros casos de atribuição incorrecta de material de diagnóstico pertinente durante o processo. Os prestadores de cuidados de saúde poderão ter de adquirir uma nova amostra se os resultados não estiverem correlacionados com a história clínica do paciente. Além disso, a citologia aborda diferentes questões clínicas diferentes dos testes a doenças sexualmente transmitidas (DST); assim, a remoção da alíquota pode não ser adequada a todas as situações clínicas. Se necessário, deve ser recolhida uma amostra separada para testes de DST em vez de retirar uma alíquota do SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes).
- A remoção da alíquota de amostras de baixa celularidade poderá deixar material insuficiente no SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) para preparação de um teste Pap SurePath® satisfatório.
- A alíquota deve ser removida antes de processar o teste Pap SurePath®. Apenas uma alíquota pode ser removida do SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) antes de executar o teste Pap, independentemente do volume da alíquota.

Procedimento

- Para garantir uma mistura homogênea, o SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) deve ser misturado por meio de vórtex durante 10-20 segundos e a alíquota de 0,5 mL deve ser removida no máximo um minuto depois de ser misturada no vórtex.
- Uma ponta de pipeta com barreira para aerossóis em polipropileno com o tamanho correcto para o volume que está a ser retirado deve ser utilizada para a remoção da alíquota. *Nota:* Não devem ser utilizadas pipetas serológicas. As boas práticas laboratoriais devem ser seguidas para evitar a introdução de contaminantes no frasco de colheita SurePath® Preservative Fluid collection vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes) ou na alíquota. A remoção da alíquota devem ser executadas numa localização adequada fora de uma área em que a amplificação é executada.

3. Verificar visualmente o material da alíquota na pipeta se existem partículas ou semi-sólidas de grandes dimensões. A evidência deste material encontrado durante a remoção do material da alíquota deve implicar a devolução de todo o material para o frasco da amostra e desqualificar a amostra para testes auxiliares antes de executar o teste Pap.
4. Para obter instruções sobre o processamento da alíquota utilizando os Testes de ADN Amplificado BD ProbeTec™ CT Q⁺ e GC Q⁺ Amplified DNA Assays, consulte os Folhetos Informativos dos testes fornecidos pelo fabricante.

MATERIAIS NECESSÁRIOS

Consulte o Manual do Utilizador do PrepStain® System para obter as informações completas acerca dos reagentes, componentes e acessórios. Nem todos os materiais listados abaixo são necessários para a preparação manual das lâminas SurePath® (sem utilizar o instrumento PrepStain®).

Material Fornecido

- Instrumento PrepStain®
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Recolha de Fluidos Conservantes) (inclui o SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante))
- Dispositivo(s) de amostragem Cervical Sampling Device com cabeça(s) amovível(s)
- Reagente PrepStain® Density Reagent (Reagente de Densidade)
- PrepStain® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa)
- PrepStain® Settling Chambers (Câmaras de Incubação)
- Kit de Coloração para Citologia
- Lâminas SurePath® PreCoat (Previamente Revestidas)
- Tubos de Centrifugação
- Suportes para lâminas e tubos
- Pontas de Transferência e Aspiração Descartáveis

Material Necessário Mas Não Fornecido

- Agitador vórtex
- Água desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol e álcool com grau adequado para reagente
- Agente de limpeza, meio de montagem e lamelas de vidro

CONSERVAÇÃO

A condição de conservação do SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) sem amostras citológicas é de 36 meses, a contar da data de fabrico, à temperatura ambiente (15 ° a 30 °C).

O limite de conservação do SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) com amostras citológicas é de 6 meses refrigerado (2 ° a 10 °C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15 ° a 30 °C).

SurePath® Preservative Fluid (Fluido Conservante) que contém uma amostra citológica destinada a utilização com os Testes de ADN Amplificado BD ProbeTec™ CT Q⁺ e GC Q⁺ Amplified DNA Assays podem ser conservados e transportados durante um máximo de 30 dias a temperaturas entre 2° – 30° C antes de serem transferidas para os Tubos de Diluição de Amostras Citológicas de Base Líquida (LBC) para os testes de ADN BD ProbeTec™ Q⁺ Amplified DNA Assays.

INTERPRETAÇÃO DE DIAGNÓSTICO E ADEQUAÇÃO DA PREPARAÇÃO

Após a formação do utilizador, autorizada pela TriPath Imaging, referente ao PrepStain® System e às lâminas SurePath®, podem ser aplicados os critérios de diagnóstico citológico do sistema Bethesda, actualmente utilizados nos laboratórios de citologia para esfregaços citológicos convencionais, às lâminas SurePath®.¹ Novas recomendações no Bethesda 2001 Reporting System abordam as preparações de base líquida e definem o modo de determinação da celularidade adequada, especificamente para essas preparações.

Na ausência de células anómalas, uma preparação é considerada insatisfatória se uma ou mais das seguintes condições estiver presente:

- (1) Número inadequado de células para diagnóstico (menos de 5.000 células epiteliais escamosas por preparação). De seguida, são descritos os procedimentos recomendados para estimar a contagem de células epiteliais escamosas bem conservadas nas lâminas SurePath®:
 - Para cada modelo de microscópio usado no rastreio, verifique o manual do microscópio fornecido pelo fabricante ou contacte o fabricante do microscópio para determinar a área do campo de visão que utiliza a ocular preferida e a objectiva de 40x. Em alternativa, calcule a área do campo utilizando um hemocítmetro ou uma escala de medição de lâmina de microscópio similar (área do campo = πr^2 em que r é o raio do campo).
- O número médio mínimo de células por campo de objectiva de 40x deve ser determinado dividindo a área de deposição de células de cerca de 130 mm² da lâmina SurePath® pela área de campo para o microscópio específico. O número resultante é então dividido pelo mínimo de 5.000 células. O número resultante é o valor da adequação média mínima recomendada para células epiteliais num campo de visão da objectiva de 40x. Registe este número e conserve-o para consulta de rotina pelo técnico de citologia. As directrizes Bethesda 2001 indicam o número aproximado de células por campo para uma preparação de 13 mm.
- Deverá ser contabilizado um mínimo de dez campos horizontalmente ou verticalmente ao longo do centro do diâmetro da preparação.
 - Como meio prático de avaliar a celularidade, pode ser usada a avaliação macroscópica da densidade visual da preparação corada para verificar a adequação das fases de produção da preparação. Não existe, contudo, qualquer substituto para a avaliação microscópica primária realizada pelo técnico de citologia durante o processo de rastreio.

- (2) Pelo menos 75% dos componentes celulares estão ocultados por inflamação, sangue, bactérias, muco ou artefactos que impedem a interpretação citológica da lâmina.

Quaisquer observações de rastreio anómalas ou questionáveis devem ser comunicadas a um patologista para análise e diagnóstico. O patologista deverá detectar quaisquer alterações morfológicas celulares significativas a nível de diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO: RELATÓRIO DE ENSAIOS CLÍNICOS

PRIMEIRO ESTUDO DE AMOSTRA DIVIDIDA

A TriPath Imaging conduziu uma investigação clínica prospectiva com ocultação, de amostragem emparelhada e amostras divididas, em múltiplos centros, para comparar os resultados de diagnóstico das lâminas SurePath® produzidas pelo PrepStain® System com os resultados dos esfregaços citológicos preparados de forma convencional. O objectivo do estudo foi avaliar o desempenho do SurePath® quando comparado com o esfregaço citológico convencional para a detecção de cancro cervical, lesões pré-cancerosas, células atípicas em diversas populações de pacientes e definições laboratoriais. A adequação também foi avaliada para ambas as preparações.

Seguindo as recomendações do documento da FDA “Points to Consider: Cervical Cytology Devices”¹⁰ (aspectos a considerar relativamente aos dispositivos de citologia cervical), cada esfregaço citológico convencional foi preparado primeiro e depois a amostra restante no dispositivo de amostragem do tipo escova foi depositada num frasco SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Frasco de Colheita de Fluidos Conservantes).

Após transporte para o laboratório, cada suspensão celular preservada foi processada de acordo com o protocolo do PrepStain® System. A lâmina SurePath® resultante e a lâmina de esfregaço citológico convencional correspondente foram analisadas manualmente e diagnosticadas de modo independente utilizando categorias de diagnóstico consistentes com o sistema Bethesda. Em cada centro, um patologista avaliou todas as lâminas anómalas.

Seguindo o método descrito por Shatzkin¹¹, este estudo recorreu a um patologista de referência independente, num centro de referência seleccionado, que analisou todos os casos anómalos e discrepantes, os casos corrigidos e 5% dos casos normais de todos os centros, com ocultação de modo a fornecer a “verdade” diagnóstica para cada caso.

CARACTERÍSTICAS DAS PACIENTES

A idade das mulheres no estudo variou de 16 a 87 anos, sendo 772 pós-menopáusicas. Das 8.807 pacientes representadas no estudo, 1.059 apresentavam histórico de esfregaços citológicos anómalos anteriores. A totalidade da população estudada era composta pelos seguintes grupos étnicos: raça branca (44%), negra (30%), asiática (12%), hispânica (10%), indígenas americanas (3%) e outras (1%).

Foram excluídas as pacientes com documentos incorrectos, menores de 16 anos, pacientes submetidas a histerectomia, e as amostras citologicamente insatisfatórias e inadequadas. Foi realizado um esforço no sentido de incluir o máximo possível de casos de cancro cervical e de patologia pré-cancerosa, procurando pacientes de alto risco, pacientes raramente rastreadas e pacientes encaminhadas pelo médico para rastreio.

Do total de 10.335 casos, 9.046 foram aceites e avaliados em oito centros de estudo diferentes. Destes 9.046 casos, 8.807 cumpriam os requisitos do sistema Bethesda quanto à adequação da preparação e estiveram disponíveis para o diagnóstico completo de ambas as preparações.

RESULTADOS DO ESTUDO

O objectivo do ensaio clínico consistia em comparar o desempenho das lâminas SurePath® produzidas pelo PrepStain® System com os esfregaços citológicos convencionais. As lâminas dos dois tipos de preparação foram classificadas de acordo com os critérios do sistema Bethesda. O protocolo de estudo foi enviesado a favor do esfregaço citológico convencional, uma vez que o esfregaço citológico convencional foi sempre preparado primeiro, reduzindo assim a lâmina SurePath® ao material residual restante no dispositivo do tipo escova (a parte da amostra que normalmente teria sido descartada).¹² A utilização pretendida do teste SurePath® é uma aplicação *direct-to-vial* (directamente para o frasco) em que todas as células colhidas estão disponíveis para serem utilizadas pelo PrepStain® System.

Para comparar as sensibilidades das lâminas SurePath® e das lâminas de esfregaço citológico convencional quando lidas manualmente, o nível de anomalia para os casos foi determinado pelo patologista de referência e comparada com diagnósticos efectuados pelos centros do estudo. O diagnóstico de referência baseou-se no diagnóstico mais anormal de ambas as preparações de lâminas feito pelo patologista de referência independente. Este resultado foi usado como diagnóstico “verdadeiro” ou valor de referência para a comparação dos resultados dos centros utilizando a preparação do PrepStain® System de lâminas SurePath® em comparação com a preparação de esfregaço citológico convencional. A hipótese nula de que as sensibilidades dos dois métodos de preparação da lâmina são equivalentes foi testada utilizando o teste de Qui-quadrado de McNemar para dados emparelhados.¹³ Neste teste estatístico, foram comparados os resultados discrepantes dos dois métodos de preparação.

O Quadro 1 apresenta uma comparação directa de resultados de todos os centros relativamente às lâminas SurePath® e às lâminas convencionais para as categorias de diagnóstico e tratamento: dentro dos limites normais (WNL), células escamosas atípicas de relevância indeterminada/células glandulares atípicas de relevância indeterminada (ASCUS/AGUS), lesão intraepitelial escamosa de baixo grau (LSIL), lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL) e cancro (CA).

Quadro 1 Primeiro estudo de amostra dividida: 8.807 Amostras emparelhadas - Comparação dos resultados dos centros - Sem patologista de referência

Resultados por centro								
Centro n.º	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 do SurePath® vs. preparação de esfregaço citológico convencional para todas as categorias de diagnóstico e tratamento.

Quadro 2 Primeiro estudo de amostra dividida: 8.807 Amostras emparelhadas - Comparação dos resultados de todos os centros - Sem patologista de referência

Esfregaço citológico preparado pelo método convencional								
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
	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 Quadro 1 e no Quadro 2 não estão incluídos os resultados do patologista de referência independente.

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 dos Erros Discordantes

Lâmina preparada pelo método convencional				
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	Êxito		Erro	
	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 em Convencional: 205
Erros em 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 dos erros discordantes para avaliar a sensibilidade dos métodos no delineamento de estudo de amostras divididas. Os erros incluem WNL e Reactiva/Regenerativa. Uma vez que o valor-p determinado pelo teste de McNemar foi superior a 0,05, os resultados do SurePath® e do esfregaço citológico convencional foram considerados 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 dos Erros Discordantes

Lâmina preparada pelo método convencional				
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	Êxito		Erro	
	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 em Convencional: 63
Erros em 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 amostras divididas 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 dos Erros Discordantes (LSIL não é um erro)

Lâmina preparada pelo método convencional				
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	Êxito		Erro	
	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 em Convencional: 28
Erros em SurePath®: 36

O Quadro 5 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Nesta comparação, LSIL não foi considerado como um erro mas antes como uma discrepância.^{10,14,15} O erro inclui WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS. A análise da sensibilidade dos erros discordantes revelou a equivalência estatística dos métodos no estudo de amostras divididas.

Quadro 6 Primeiro estudo de amostra dividida: Análise dos erros discordantes para casos de cancro (HSIL não é um erro; LSIL é considerado um erro)

Lâmina preparada pelo método convencional				
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	Êxito		Erro	
	Êxito	19	2	21
	Erro	5	1	6
		24	3	27

Êxito = Cancro
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do Teste de McNemar: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Erros em Convencional: 2
Erros em SurePath®: 5

O Quadro 6 apresenta os resultados (todos os centros) para os casos considerados de cancro pelo método de referência. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. A análise da sensibilidade dos erros discordantes revelou equivalência estatística dos métodos. Estes 27 casos de cancro foram incluídos no estudo de reavaliação. Estes dados podem ser encontrados 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 dos Erros Discordantes (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

Lâmina preparada pelo método convencional				
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	Êxito		Erro	
	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 em Convencional: 33
Erros em 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 realizada uma comparação estatística dos métodos em que LSIL foi considerado um erro de diagnóstico relativamente a um caso determinado 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 esfregaço citológico 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 pela 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 sistema Bethesda. Estes casos de HSIL+ foram ocultados novamente 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 com 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 com ocultação. 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 com ocultação.

Quadro 8 Estudo de reavaliação: Análise dos erros discordantes 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
	Erro	24	6
		177	32

Êxito = HSIL+
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do Teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Erros em Convencional: 26
Erros em SurePath[®]: 24

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 sensibilidades de diagnóstico demonstrou uma equivalência estatística entre os dois métodos.

Quadro 9 Estudo de reavaliação: Análise dos erros discordantes 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
	Erro	3	0
		35	3

Êxito = Cancro
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do Teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Erros em Convencional: 3
Erros em 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 da sensibilidade dos erros discordantes revelou equivalência estatística dos métodos.

A reavaliação com ocultação continha 2.097 novos casos que foram utilizados para ocultar novamente 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

		Esfregaço citológico preparado pelo método 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 dos Erros Discordantes (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

		Lâmina preparada pelo método convencional	
		Êxito	Erro
Lâmina SurePath [®] preparada por PrepStain [®]	Êxito	25	21
	Erro	21	10
		46	31

Êxito = HSIL+
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL

Resultado do Teste de McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Erros em Convencional: 21
Erros em 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 (N.º de pacientes: 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

* Para a categoria Infecção acima referida, são reportados os agentes infecciosos observados. 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 atrófica, radiação e utilização de DIU bem como regeneração típica envolvendo células epiteliais pavimentosas, colunares ou metaplásicas pavimentosas.

Um total de 8.807 casos não apresentou qualquer avaliação “insatisfatória”, quer pelos centros de estudo, quer pelo centro de referência. Outras 239 amostras foram classificadas como “insatisfatórias” por um ou ambos os centros de estudo e/ou pelo centro de referência 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 como nas SurePath[®]. Todos os casos insatisfatórios foram excluídos da comparação de diagnóstico pelas categorias do sistema Bethesda, mas foram novamente incluídos 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 (N.º de pacientes: 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 escamosas	4	< 0.1	7	0.1
Citólise	10	0.1	11	0.1
Ausência de História clínica	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 escamosas	6	0.1	0	0
Citólise	0	0	1	< 0.1
Ausência de História clínica	0	0	0	0
Não especificado	37	0.4	32	0.5

Nota: Algumas das pacientes incluem-se em 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 UNSAT = 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	UNSAT	
Lâmina SurePath® preparada por 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 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® em comparação com as lâminas convencionais.

Quadro 15 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados insatisfatórios obtidos nos centros do estudo clínico e no centro de referência

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		SAT	UNSAT	
Lâmina SurePath® preparada por PrepStain®	SAT	8,807	151	8,958
	UNSAT	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 do estudo 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	SurePath® SBLB 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 do estudo. 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 pacientes 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 sistema Bethesda.

AVALIAÇÃO DA PREPARAÇÃO DA LÂMINA SUREPATH® UTILIZANDO O BD 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®h:

- A inclusão do acessório PrepMate® (método PrepMate®), que automatiza os primeiros passos manuais do processo laboratorial PrepStain®. O PrepMate® mistura e retira automaticamente a amostra dos frascos de conservante SurePath® Preservative Vials (Frascos de Conservante) e dispõe a amostra em camadas sobre o reagente PrepStain® Density Reagent (Reagente de Densidade) numa proveta.
- A inclusão do método manual Manual Method, no qual, em vez de se utilizar o instrumento PrepStain® para suspensão das células e coloração da lâmina, a suspensão de células é manualmente disposta em camadas sobre a lâmina e corada por um técnico laboratorial.

Este estudo avaliou mais de 400 casos numa comparação com ocultação 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® quando comparadas com as 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 Manual Method quando comparadas com as lâminas preparadas de acordo com o método PrepStain® aprovado.

Outros objectivos do estudo consistiam em:

- Determinar se o grau de concordância 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 concordância entre o método PrepStain® aprovado e o Manual method era superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com os padrões do sistema PrepStain® System para a preparação de lâminas SurePath® utilizando o método PrepMate®.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com os padrões do sistema PrepStain® System para a preparação de lâminas SurePath® utilizando o Manual Method.

ACESSÓRIO PREPMATE®

O PrepMate® é um acessório do sistema PrepStain® System 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® Preservative Vials (Frascos de Conservante) e dispõe a amostra em camadas sobre o reagente PrepStain® Density Reagent (Reagente de Densidade) 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. Só podem ser utilizados 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®, os aglomerados de células centrifugadas são colocados directamente sobre o instrumento PrepStain® para processamento automatizado, de modo a produzir lâminas SurePath® coradas.

No método Manual, adiciona-se água desionizada ao aglomerado de células centrifugado seguido de mistura por vórtex para ressuspender e aleatorizar a amostra. A amostra é transferida para uma câmara de incubação montada numa lâmina previamente revestida SurePath® PreCoat (Previamente Revestida). Uma vez a amostra depositada sobre a lâmina, esta é corada através de um procedimento de coloração de Papanicolaou em lote.

DISTRIBUIÇÃO DAS LÂMINAS

O Quadro 17 mostra a distribuição de lâminas utilizadas no estudo clínico. Convém referir que o conjunto de estudo consistia em **três lâminas por caso**.

Quadro 17 Distribuição das lâminas

	Casos	Lâminas
Número total incluído 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 pacientes duplicados, etc.

DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO

O Quadro 18 apresenta os dados demográficos etários das pacientes para todos os casos incluídos na população do estudo.

Quadro 18 Dados demográficos das pacientes

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
Histerectomia	16
Gravidez	9
Pós-aborto	0
Pós-natal	9
Pós-menopáusia	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 História clínica

Histórico	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 do papiloma humano)	0
Herpes	1
Historial de LT*	1
Historial de DIP**	57
Nada a indicar	363

* Laqueação tubária
* Doença inflamatória pélvica

RESULTADOS DO ESTUDO

A finalidade deste estudo é determinar se as lâminas SurePath® preparadas utilizando os procedimentos do método PrepMate® e do método Manual obtiveram um resultado favorável na comparação 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 PrepStain® e Manual não difere da das lâminas preparadas pelo método PrepStain® aprovado. Estes resultados corroboram a comparabilidade dos métodos PrepMate® e Manual relativamente ao método PrepMate® 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 proporção de lâminas aceitáveis foi calculada juntamente com o correspondente intervalo de confiança exacto de 95%.

Quadro 21 Comparação das taxas e intervalos de confiança (CI) para os critérios de aceitabilidade

		Método de preparação de lâminas					
		PrepStain®		PrepMate®		Método Manual	
		Taxa (n/N)	Exacto CI 95%	Taxa (n/N)	Exacto CI 95%	Taxa (n/N)	Exacto CI 95%
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
	Celularidade escassa	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 de 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 com os 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.

CONCORDÂNCIA NO 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. Idealmente, o diagnóstico obtido a partir das lâminas preparadas pelos dois métodos é igual. Este facto é representado pelo número de lâminas com diagnóstico idêntico, que aparecem na diagonal principal de cada quadro.

A primeira medida de concordância é a proporção de lâminas na diagonal principal e os intervalos de confiança exacto de 95% correspondentes. A segunda medida de concordância é obtida a partir da estatística kappa, que foi calculada para cada comparação e testada. O teste determina se o grau de concordância 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 PREPSTAIN® E PREPMATE® APROVADOS

No Quadro 22, o número de lâminas na diagonal principal é de 367 (2+334+8+6+5+11+1) e a proporção de lâminas na diagonal principal é de 0,9107 (367/403) com limites de confiança exactos de 95% entre 0,8785 e 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 de 95% entre 0,8881 e 0,9442.

Os resultados apresentados no Quadro 22 indicam que o método PrepStain® aprovado e o método PrepMate® possuem uma elevada proporção de lâminas com concordância no diagnóstico, como indica a proporção de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kappa ponderado indica que a concordância 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®									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico pelo método 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

COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS PREPSTAIN® E MANUAL APROVADOS

No Quadro 23, o número de lâminas na diagonal principal é de 353 (3+315+6+10+7+11+1). A proporção de lâminas na diagonal principal é de 0,8759 (353/403). O binómio exacto dos limites de confiança de 95% para esta proporção 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 de 95% entre 0,8433 e 0,9097. Os resultados apresentados no Quadro 23 indicam que o método PrepStain® aprovado e o método Manual possuem uma elevada proporção de lâminas com concordância no diagnóstico, como indica a proporção de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kappa ponderado indica que a concordância foi muito superior ao que poderia ser atribuído apenas ao acaso. Assim sendo, o desempenho a nível do diagnóstico é idêntico 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®									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico do pelo método manual	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

ADEQUAÇÃO DAS LÂMINAS

A adequação das lâminas também 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®

		Resultados do Método PrepStain®		
		SAT ou SBLB	UNSAT	
Resultados do método PrepMate®	SAT ou SBLB	398	3	401
	UNSAT	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 Manual e PrepStain®

		Resultados do Método PrepStain®		
		SAT ou SBLB	UNSAT	
Resultados do Método Manual	SAT ou SBLB	398	2	400
	UNSAT	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 DIRECT-TO-VIAL (DIRECTAMENTE PARA O FRASCO)

Na sequência da aprovação inicial pela FDA do PrepStain® System, a TriPath Imaging realizou um estudo de grandes dimensões, em vários centros, sobre o PrepStain® System 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 PrepStain® System para criar uma lâmina SurePath®. Está demonstrado que o delineamento de estudo de amostras divididas subestima 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 os esfregaços citológicos convencionais. Os resultados obtidos com o SurePath® foram comparados com os resultados obtidos a partir de um coorte de esfregaços citológicos convencionais. Este estudo avaliou, especificamente, se as lâminas SurePath® melhoravam as hipóteses de detecção de lesões intraepiteliais escamosas 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 esfregaço citológico 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® comparativamente 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

HSIL+

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	HSIL+	Percentagem (%)	Total	HSIL+	Percentagem (%)
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+	Percentagem (%)	Total	LSIL+	Percentagem (%)
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+	Percentagem (%)	Total	ASCUS+	Percentagem (%)
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

Amostra não satisfatória

Centro	Convencional			SurePath®		
	Total	UNSAT+	Percentagem (%)	Total	UNSAT+	Percentagem (%)
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 PrepStain® System.

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: 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

Technical Support

USA
Telephone: 1-877-822-7771
Fax: 1-336-290-8333
Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe
Telephone: +32 (0)53 720 673
Fax: +32 (0)53 720 678



NOME E LOCALIZAÇÃO DA EMPRESA

TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 EUA



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ireland



Registrado no Brasil por:
Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda
Av. Presidente Juscelino Kubitschek, 273 Juiz de Fora – MG - Brasil
CNPJ 21.551.379/0001-06
Registro ANVISA nº 10033430536
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555654

©2011 TriPath Imaging, Inc. Todos os Direitos Reservados.

Ένθετο προϊόντος για το Σύστημα PrepStain®

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Το Σύστημα PrepStain® είναι μια διαδικασία προετοιμασίας κυτταρικών επιχρισμάτων σε λεπτή στρώση με τη μέθοδο της κυτταρολογίας υγρής φάσης. Το Σύστημα PrepStain® παράγει αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®, οι οποίες αποσκοπούν στη χρήση ως αντικατάσταση των παραδοσιακών γυναικολογικών επιχρισμάτων Παπανικολάου. Η χρήση των αντικειμενοφόρων πλάκων SurePath® αποσκοπεί στο μαζικό προσυμπτωματικό έλεγχο και την ανίχνευση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, προκαρκινωματιδών βλαβών, άτυπων κυττάρων, καθώς και όλων των άλλων κυτταρολογικών κατηγοριών, όπως ορίζονται από το Σύστημα Bethesda για την αναφορά κολποτραχηλικών κυτταρολογικών διαγνώσεων (The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses).^{1,19}

Το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) είναι ένα κατάλληλο μέσο συλλογής και μεταφοράς για γυναικολογικά δείγματα που ελέγχονται με τις Δοκιμασίες ενισχυμένου DNA BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ και *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Ανατρέξτε στα ένθετα της συσκευασίας της δοκιμασίας για οδηγίες σχετικά με τη χρήση του SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) για την προετοιμασία δειγμάτων που θα χρησιμοποιηθούν με αυτές τις δοκιμασίες.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Το Σύστημα PrepStain® μετατρέπει ένα υγρό εναιώρημα τραχηλικού κυτταρικού δείγματος σε διακριτά χρωματισμένο, ομοιογενές λεπτό στρώμα κυττάρων ενώ διατηρεί τα διαγνωστικά κυτταρικά σμήνη.²⁻⁹ Η διαδικασία περιλαμβάνει συντήρηση των κυττάρων, τυχαίοποίηση, εμπλουτισμό του διαγνωστικού υλικού, δειγματοληψία με πιπέτα, καθίζηση, χρώση και κύλιση των οδηγιών στην δημιουργία μιας αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath® που χρησιμοποιείται σε προληπτική κυτταρολογική εξέταση και κατηγοριοποίηση ρουτίνας, όπως αυτή ορίζεται από το σύστημα Bethesda. Η αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath® εμφανίζει έναν καλά διατηρημένο πληθυσμό χρωματισμένων κυττάρων σε κύκλο διαμέτρου 13mm. Με το σύστημα αυτό μειώνονται σημαντικά τα τεχνουργήματα artifact από την ξήρανση στον αέρα, η απόκρυψη και η αλληλοεπικάλυψη του κυτταρικού υλικού και τα υπολείμματα. Οι αριθμοί των λευκών αιμοσφαιρίων μειώνονται σε σημαντικό βαθμό, επιτρέποντας την ευκολότερη οπτικοποίηση των επιθηλιακών κυττάρων, των διαγνωστικών σημαντικών κυττάρων και των μολυσματικών μικροοργανισμών.

Η διαδικασία SurePath® ξεκινά με τη συλλογή του γυναικολογικού δείγματος από εξειδικευμένο ιατρικό προσωπικό, το οποίο χρησιμοποιεί μια συσκευή δειγματοληψίας τύπου σκούπας (π.χ., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Ολλανδία) ή έναν συνδυασμό ενδοτραχηλικής ψήκτρα/πλαστικής σπάτουλας (π.χ., Cytobrush® Plus GT και σπάτουλα Pap Perfect®, Medscand (HPIA) Inc., Trumbull, CT) με αποσπώμενη(ες) κεφαλή(ές). Αντί να πραγματοποιηθεί επιχρίσμα των κυττάρων που συλλέχθηκαν από τις συσκευές δειγματοληψίας πάνω στην γυάλινη αντικειμενοφόρο, οι κεφαλές των συσκευών δειγματοληψίας αποσπώνται από την λαβή και τοποθετούνται σε φιαλίδιο με υγρό συντήρησης SurePath® Preservative Fluid. Το φιαλίδιο πομπιτίζεται, σημαίνεται και αποστέλλεται με τα κατάλληλα συνοδευτικά έγγραφα στο εργαστήριο για επεξεργασία. Οι κεφαλές των συσκευών δειγματοληψίας δεν αφαιρούνται σε κανένα χρονικό σημείο από το φιαλίδιο συντήρησης που περιέχει το δείγμα που συλλέχθηκε.

Στο εργαστήριο, το συντηρημένο δείγμα αναμινύεται με περιδίνηση* και εν συνεχεία μεταφέρεται σε PrepStain® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας). Ένα βήμα εμπλουτισμού, που συνίσταται στην καθίζηση διά φυγοκεντρήσεως με χρήση του αντιδραστηρίου πυκνότητας, αφαιρεί εν μέρει τα μη διαγνωστικά υπολείμματα και την περίσσεια φλεγμονωδών κυττάρων από το δείγμα. Μετά τη φυγοκέντρωση, τα κυτταρικά σφαιρίδια επαναωρονούνται, αναμινύονται και μεταφέρονται σε PrepStain® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης) στερεωμένο σε πλάκα SurePath® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα). Τα κύτταρα καθίζουν μέσω της βαρύτητας και εν συνεχεία χρωματίζονται χρησιμοποιώντας τροποποιημένη διαδικασία χρώσης Παπανικολάου. Η αντικειμενοφόρος πλάκα υφίσταται διαύγαση με ξυλένιο ή υποκατάστατο ξυλένιου και εν συνεχεία καλύπτεται. Τα κύτταρα, που σχηματίζουν κύκλο διαμέτρου 13 mm, εξετάζονται στο μικροσκόπιο από εκπαιδευμένους κυτταροτεχνολόγους και παθολογοανατόμους, οι οποίοι έχουν πρόσβαση και σε άλλες σχετικές πληροφορίες από το ιστορικό του ασθενούς.

* Σημείωση: Για συμπληρωματικό έλεγχο, η αφαίρεση του κλάσματος έως 0.5 mL μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά από αυτό το βήμα περιδίνησης στη διαδικασία ελέγχου LBC SurePath® LBC Test.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Τα γυναικολογικά δείγματα που θα παρασκευαστούν με τη χρήση του συστήματος PrepStain® θα πρέπει να συλλέγονται χρησιμοποιώντας συσκευή δειγματοληψίας τύπου σκούπας ή μια συσκευή που συνδυάζει ενδοτραχηλική ψήκτρα/πλαστική σπάτουλα με αποσπώμενη(ες) κεφαλή(ές), σύμφωνα με την τυπική διαδικασία συλλογής όπως παρέχεται από τον κατασκευαστή. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ξύλινες σπάτουλες με το σύστημα PrepStain®. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται συνδυασμοί ενδοτραχηλικής βοούτσας/πλαστικής σπάτουλας που δεν έχουν αποσπώμενη κεφαλή με το σύστημα PrepStain®.
- Η εκπαίδευση από εξουσιοδοτημένα άτομα αποτελεί προαπαιτούμενο για την προετοιμασία και την αξιολόγηση αντικειμενοφόρων πλάκων SurePath®. Οι κυτταροτεχνολόγοι και οι παθολογοανατόμοι θα έχουν εκπαιδευτεί στην αξιολόγηση της κυτταρικής μορφολογίας πάνω στις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®. Η εκπαίδευση θα περιλαμβάνει μια εξέταση κατάρτισης. Στους πελάτες του εργαστηρίου θα παρασχεθεί εκπαιδευτική αντικειμενοφόρος πλάκα και σετ δοκιμασιών. Η TriPath Imaging, Inc. θα παρέχει επίσης βοήθεια στην προετοιμασία των εκπαιδευτικών αντικειμενοφόρων πλάκων από τα δείγματα του πληθυσμού των ασθενών κάθε πελάτη του εργαστηρίου.
- Η σωστή απόδοση του συστήματος PrepStain® απαιτεί να χρησιμοποιούνται μόνο τα αναλώσιμα εκείνα που υποστηρίζονται από την TriPath Imaging, για χρήση με το σύστημα PrepStain®. Τα αναλώσιμα που έχουν χρησιμοποιηθεί πρέπει να απορρίπτονται κατά τα δόνατα σύμφωνα με τους θεσμικούς και κυβερνητικούς κανονισμούς.

- Όλα τα αναλώσιμα προορίζονται για μία μόνο χρήση και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ξανά.
- Για τη διαδικασία του ελέγχου LBC SurePath® LBC Test απαιτείται ποσότητα 8,0 ± 0,5 mL του δείγματος που έχει συλλεχθεί στο SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης).

Αντιδραστήρια



Για in vitro διαγνωστική χρήση. Μόνο για εργαστηριακή χρήση.

Προειδοποιήσεις



Το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) περιέχει υδατικό διάλυμα μετουσιωμένης αιθανόλης. Το μείγμα περιέχει μικρές ποσότητες μεθανόλης και ισοπροπανόλης. Να μην καταποθεί.



Το PrepStain® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας) περιέχει νατράζιο. Να μην καταποθεί. Το νατράζιο ενδέχεται να αντιδρά με μολύβδινες ή χάλκινες υδραυλικές εγκαταστάσεις και να σχηματίζει πολύ εκρηκτικά μεταλλικά αζοτιδία. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να εμποδίσετε τη συσσώρευση αζωτιδίων. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη δημοσίευση DHHS (NIOSH) No. 78-127 Current 13 που έχει εκδοθεί από τα Centers for Disease Control (Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Ασθενειών). Βλ. διεύθυνση ιστοσελίδας: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Ο συνδυασμός κυτταρολογικής χρώσης PrepStain® EA/OG περιέχει αλκοόλη. Τοξικό εάν καταποθεί. Να μην αναπνέετε αναθυμιάσεις. Χρησιμοποιείτε με επαρκή αερισμό. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Πολύ εύφλεκτο.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Πρέπει να εφαρμόζονται οι ενδεδειγμένες εργαστηριακές πρακτικές και να τηρούνται αυστηρά όλες οι διαδικασίες χρήσης του συστήματος PrepStain®.
- Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου (15 ° ως 30 °C) και να έχουν χρησιμοποιηθεί πριν την ημερομηνία λήξης τους, ώστε να διασφαλιστεί η κατάλληλη απόδοση. Οι συνθήκες αποθήκευσης για το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) χωρίς κυτταρολογικά δείγματα είναι έως 36 μήνες από την ημερομηνία παραγωγής σε θερμοκρασία δωματίου (15 ° έως 30 °C). Το όριο αποθήκευσης για το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) με κυτταρολογικά δείγματα είναι 6 μήνες σε θερμοκρασίες ψύξης (2 ° έως 10 °C) ή 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου (15 ° έως 30 °C). Το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) που περιέχει κυτταρολογικό δείγμα που προορίζεται για χρήση με τις Δοκιμασίες ενισχυμένου DNA BD ProbeTec™ CT Q⁺ και GC Q⁺ μπορεί να αποθηκευτεί και να μεταφερθεί για διάστημα έως και 30 ημερών στους 2 ° – 30 °C πριν από τη μεταφορά του σε σωλίνες αραιώσεως κυτταρολογικού δείγματος υγρής βάσης (LBC) για τις Δοκιμασίες ενισχυμένου DNA BD ProbeTec™ Q⁺.
- Αποφύγετε τους πλαταγισμούς ή τη δημιουργία αερολυμάτων. Οι χειριστές θα πρέπει να χρησιμοποιούν την κατάλληλη προστασία για τα χέρια, τα μάτια και το ρουχισμό.
- Το SurePath® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) δοκιμάστηκε για την ανάπτυξη βακτηριακής του δράσης έναντι στα: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* και *Aspergillus niger* και βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό. Δείγματα SurePath® Preservative που ενοφθαλμίστηκαν με μικρόβια σε συγκέντρωση 10⁶ CFU/mL από κάθε είδος, δεν παρουσίασαν ανάπτυξη μετά από 14 ημέρες (28 ημέρες για το *Mycobacterium tuberculosis*) σε επώαση υπό κανονικές συνθήκες. Ωστόσο, πρέπει να τηρούνται πάντα οι γενικές προφυλάξεις για τον ασφαλή χειρισμό βιολογικών υγρών.
- Εάν δεν ακολουθηθούν οι συνιστώμενες διαδικασίες, όπως περιγράφονται στο εγχειρίδιο χειριστή του συστήματος PrepStain®, ενδέχεται να προκύψει υποβιβασμός της απόδοσης.

ΠΡΟΑΙΡΕΤΙΚΗ ΑΦΑΙΡΕΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

- Ο όγκος του SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) είναι επαρκής ώστε να είναι δυνατή η αφαίρεση έως και 0,5 mL ομογενούς μίγματος κυττάρων και υγρού για συμπληρωματικό έλεγχο, πριν από το τεστ Παπανικολάου SurePath® Pap Test ενώ παρέχεται επαρκής όγκος και για το τεστ Παπανικολάου.
- Παρότι δεν υπάρχουν στοιχεία ότι η αφαίρεση ενός κλάσματος από το SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) επηρεάζει την ποιότητα του δείγματος για κυτταρολογικό έλεγχο, ενδέχεται να παρουσιαστούν κατά τη διαδικασία αυτή σπάνια περιστατικά εσφαλμένης κατανομής του σχετικού διαγνωστικού υλικού. Οι παροχές υγιεινομικής περιθάλψης ενδεχομένως να πρέπει να λάβουν νέο δείγμα εάν τα αποτελέσματα δεν σχετίζονται με το κλινικό ιστορικό του ασθενή. Επίσης, η κυτταρολογία θέτει διαφορετικά κλινικά ερωτήματα από τον έλεγχο σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων (ΣΜΝ), συνεπώς η αφαίρεση κλάσματος ενδεχομένως να μην είναι κατάλληλο για όλες τις κλινικές καταστάσεις. Εάν είναι απαραίτητο, είναι δυνατή η συλλογή ενός ξεχωριστού δείγματος για έλεγχο ΣΜΝ αντί για λήψη κλάσματος από το SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης).
- Η αφαίρεση κλάσματος από δείγματα χαμηλής κυτταροβρίθειας ενδέχεται να αφήνουν μη επαρκές υλικό στο SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) για την προετοιμασία ενός ικανοποιητικού SurePath® Pap test (Τεστ Παπανικολάου).
- Το κλάσμα θα πρέπει να αφαιρεθεί πριν από τη διαδικασία του SurePath® Pap test (Τεστ Παπανικολάου). Μόνο ένα κλάσμα του δείγματος μπορεί να αφαιρεθεί από το

στο φιαλίδιο, όπου όλα τα συλλεχθέντα κύτταρα θα είναι διαθέσιμα στο σύστημα PrepStain®.

Για να συγκριθούν οι ευαισθησίες των μεθόδων προετοιμασίας των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® και των παραδοσιακών επιχρίσμάτων Παπανικολάου με χειροκίνητη ανάγνωση, το κατώφλι πέρα του οποίου κάποια περίπτωση χαρακτηρίζεται μη φυσιολογική καθορίστηκε από τον παθολογοανατόμο αναφοράς και συγκρίθηκε με τις διαγνώσεις που έγιναν στα κέντρα μελέτης. Η διάγνωση αναφοράς βασίστηκε στη περισσότερη παθολογική από τις διαγνώσεις που έγιναν σε κάθε ένα από τα διαφορετικά αντιστοιχισμένα παρασκευάσματα από τον ανεξάρτητο παθολογοανατόμο αναφοράς. Το αποτέλεσμα αυτό χρησιμοποιήθηκε ως η “αληθής” διάγνωση ή ως τιμή αναφοράς για τη σύγκριση με τα αποτελέσματα από τα κέντρα μελέτης, χρησιμοποιώντας από τη μία πλευρά την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® με το σύστημα PrepStain® και από την άλλη τον παραδοσιακό τρόπο παρασκευής των επιχρίσμάτων Παπανικολάου. Η μηδενική υπόθεση ότι οι ευαισθησίες των δύο μεθόδων προετοιμασίας των αντικειμενοφόρων πλακών είναι ισοδύναμες, εξετάστηκε με τη δοκιμασία χ^2 του McNemar για ζευγαρωτά δεδομένα.¹³ Σε αυτή τη στατιστική δοκιμασία, συγκρίθηκαν ασύμφωνα αποτελέσματα για τις δύο μεθόδους παρασκευής.

Ο πίνακας 1 παρουσιάζει μία ευθεία σύγκριση των αποτελεσμάτων από όλα τα κέντρα μελέτης για τις αντικειμενοφόρους πλάκας SurePath® έναντι των παραδοσιακών πλακών, για τις ακόλουθες διαγνωστικές κατηγορίες που επιβάλλουν αντίστοιχη θεραπεία: Εντός των φυσιολογικών ορίων (WNL), Ατυπα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα ακαθόριστου σημασίας / Ατυπα αδενικά κύτταρα ακαθόριστου σημασίας (ASCUS/AGUS), Χαμηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (LSIL), Υψηλού-βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (HSIL) και Καρκίνος (CA).

Πίνακας 1 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: 8.807 Αντιστοιχισμένα δείγματα — Σύγκριση αποτελεσμάτων των κέντρων μελέτης — Χωρίς παθολογοανατόμο αναφοράς

Αποτελέσματα ανά κέντρο μελέτης								
Αρ. κέντρου	Τύπος αντικειμενοφόρων πλακών	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 = Αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath®
CN = Παραδοσιακή μέθοδος

Ο πίνακας 2 αναπαριστά μια ευθεία σύγκριση των αποτελεσμάτων από όλα τα κέντρα μελέτης για τη μέθοδο παρασκευής SurePath® έναντι της παραδοσιακής παρασκευής επιχρίσματος Παπανικολάου, για όλες τις διαγνωστικές κατηγορίες που επιβάλλουν και αντίστοιχη θεραπεία.

Πίνακας 2 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: 8.807 αντιστοιχισμένα δείγματα
Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης — Χωρίς παθολογοανατόμο αναφοράς

Παραδοσιακά παρασκευασμένο επίχρισμα Παπανικολάου								
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Σύνολο
	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 ή 2 δεν αντικατοπτρίζονται αποτελέσματα από τον ανεξάρτητο παθολογοανατόμο αναφοράς.

Πίνακας 3 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίζονται από τη μέθοδο αναφοράς ως ASCUS/AGUS — Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας

Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα				
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία		Σφάλμα	
	Επιτυχία	Σφάλμα	Επιτυχία	Σφάλμα
	113	205	318	
Σφάλμα	180	229	409	
	293	434	727	

Επιτυχία = ASCUS/AGUS
Σφάλμα = WNL & Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 205
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 180

Ο πίνακας 3 εμφανίζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που αναγνωρίστηκαν από τον παθολογοανατόμο αναφοράς να είναι ASCUS ή AGUS. Η εκτίμηση αυτή επιτρέπει στην ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας να αξιολογήσει την ευαισθησία των μεθόδων προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών με το σχεδιασμό διαχωρισμού δείγματος. Τα σφάλματα συμπεριλαμβάνουν τις κατηγορίες WNL και Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές. Καθώς η p-value όπως ορίστηκε από το τεστ McNemar υπερβεί τη τιμή 0,05, τα αποτελέσματα της σύγκρισης των μεθόδων προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® και παραδοσιακών επιχρίσμάτων Παπανικολάου ήταν ισοδύναμα.

Πίνακας 4 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν από τη μέθοδο αναφοράς ως LSIL — Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας

Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα				
Αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία		Σφάλμα	
	Επιτυχία	Σφάλμα	Επιτυχία	Σφάλμα
	140	63	203	
Σφάλμα	54	86	140	
	194	149	343	

Επιτυχία = LSIL
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές & ASCUS/AGUS

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 63
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 54

Ο πίνακας 4 εμφανίζει τα αποτελέσματα περιπτώσεων που αναγνωρίστηκαν από τον παθολογοανατόμο αναφοράς να είναι LSIL. Τα σφάλματα συμπεριλαμβάνουν τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές και ASCUS/AGUS. Όπως με τη κατηγορία ASCUS/AGUS, η ευαισθησία των δύο μεθόδων στη μελέτη διαχωρισμού δείγματος ήταν στατιστικά ισοδύναμη, με τιμή p-value ανώτερη της τιμής των 0,05.

Πίνακας 5 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίζονται από τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL+ Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας (η διάγνωση LSIL δεν θεωρείται σφάλμα)

Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα				
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία		Σφάλμα	
	Επιτυχία	Σφάλμα	Επιτυχία	Σφάλμα
	160	28	188	
Σφάλμα	36	38	74	
	196	66	262	

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές & ASCUS/AGUS

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 28
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 36

Ο πίνακας 5 εμφανίζει αποτελέσματα για περιπτώσεις που αναγνωρίζονται από τον παθολογοανατόμο αναφοράς ως HSIL+. Στη σύγκριση αυτή, η διάγνωση LSIL δε θεωρήθηκε σφάλμα, αλλά ασυμφωνία.^{10,14,15} Το σφάλμα περιλαμβάνει τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστική/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές και ASCUS/AGUS. Η ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας επέδειξε στατιστική ισοδυναμία των μεθόδων στη μελέτη διαχωρισμού δείγματος.

Πίνακας 6 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας για περιπτώσεις καρκίνου (η διάγνωση HSIL δεν είναι σφάλμα, ενώ η LSIL θεωρείται σφάλμα)

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία	19	2	21
	Σφάλμα	5	1	6
		24	3	27

Επιτυχία = Καρκίνος
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 2
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 5

Ο πίνακας 6 εμφανίζει αποτελέσματα (από όλα τα κέντρα) για περιπτώσεις που έχουν κριθεί από τη μέθοδο αναφοράς να είναι καρκίνοι. Τα σφάλματα περιλαμβάνουν τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS και LSIL. Η ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας επέδειξε στατιστική ισοδυναμία των μεθόδων. Αυτές οι 27 περιπτώσεις καρκίνου συμπεριλήφθησαν στη μελέτη επανεκτίμησης. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να βρεθούν στο πίνακα 9.

Πίνακας 7 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν από τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL+ Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας (η διάγνωση LSIL θεωρήθηκε ως σφάλμα σε αυτή την ανάλυση)

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία	94	33	127
	Σφάλμα	67	68	135
		161	101	262

Επιτυχία = (HSIL+)
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 33
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 67

Ο πίνακας 7 εμφανίζει αποτελέσματα για περιπτώσεις που αναγνωρίστηκαν από τον παθολογοανατόμο αναφοράς ως HSIL+. Το σφάλμα περιλαμβάνει τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS και LSIL. Παρότι προβλεπόταν από το αρχικό πρωτόκολλο της μελέτης¹⁰, πραγματοποιήθηκε στατιστική σύγκριση των μεθόδων, όπου η περίπτωση LSIL θεωρήθηκε ότι αποτελεί διαγνωστικό σφάλμα για κάθε περίπτωση που ορίστηκε ως HSIL+ από το μοναδικό, ανεξάρτητο παθολογοανατόμο αναφοράς. Σε αυτή τη στατιστική σύγκριση των διαγνωστικών ευαισθησιών, όπου η περίπτωση LSIL θεωρείται ως σφάλμα, έναντι μικρής ασυμφωνίας, οι αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath® προετοιμασμένες με το σύστημα PrepStain® δεν είναι ισοδύναμες με τις παραδοσιακά προετοιμασμένες κατά Παπανικολάου αντικειμενοφόρους πλάκες, όσον αφορά την ανίχνευση των περιπτώσεων HSIL+ στη μελέτη διαχωρισμού δείγματος.

ΤΥΦΑΗ ΕΠΑΝΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ HSIL+

Μία νέα εκτίμηση πραγματοποιήθηκε για να καθοριστεί εάν τα αποτελέσματα επηρεάστηκαν από την ποιότητα των παρασκευασμάτων ή την υποκειμενικότητα στην ερμηνεία. Για να αξιολογηθούν οι 262 περιπτώσεις που διαγνώστηκαν ως HSIL+ στην αρχική μελέτη (Πίνακας 7), πραγματοποιήθηκε επιπρόσθετη εκτίμηση μετά την εφαρμογή ενός νέου εκπαιδευτικού προγράμματος για τους επαγγελματίες κυτταρολογία, σχεδιασμένο να δίνει έμφαση στη συνέπεια της ερμηνείας μεταξύ των διαγνωστικών ομάδων του συστήματος Bethesda. Αυτές οι περιπτώσεις HSIL+ εξετάστηκαν και πάλι με “τυφλή” μεθοδολογία, ως μέρος της επανεκτίμησης που περιλάμβανε συνολικά 2.438 δείγματα υλικού, παρασκευασμένα με το ίδιο πρωτόκολλο διαχωρισμού δείγματος. Στη νέα εκτίμηση τα αποτελέσματα από τα κέντρα μελέτης για τα δύο παρασκευάσματα συγκρίθηκαν με μια νέα τιμή αναφοράς, η οποία απαιτήσε τη συμφωνία τουλάχιστον δύο από τρεις ανεξάρτητους παθολογοανατόμους αναφοράς αναφοράς, ως προς τις κυτταρολογικές διαγνώσεις που υποδείκνυαν τη μεγαλύτερη παθολογία.

Στη διαδικασία αναφοράς για την επανεκτίμηση, και οι δύο μορφές παρασκευασμάτων αντικειμενοφόρων πλακών από τις ασύμφωνες περιπτώσεις (προετοιμασμένες με σύστημα PrepStain® αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath® και παραδοσιακά παρασκευασμένες αντικειμενοφόροι πλάκες) επανελέγχθηκαν από έναν δεύτερο κυτταροτεχνολόγο, και τα παθολογικά ευρήματα που διαγνώστηκαν για πρώτη φορά προστέθηκαν σε εκείνα από τον αρχικό έλεγχο. Τρεις κυτταροπαθολόγοι αναφοράς στη συνέχεια εκτίμησαν όλες τις περιπτώσεις ασυμφωνίας με χρήση τυφλού πρωτοκόλλου. Αυτή η περισσότερο άκαμπτη μέθοδος αναφοράς μείωσε τον αριθμό των περιπτώσεων αναφοράς HSIL+ από 262 που ήταν στην αρχική μελέτη σε 209 στη μελέτη επανεκτίμησης. Αυτή η διαφορά των 53 περιπτώσεων μπορεί να εξηγηθεί ως ακολούθως: 48 περιπτώσεις διαγνώστηκαν από την περισσότερο άκαμπτη μέθοδο αναφοράς ως LSIL ή λιγότερο σοβαρά περιστατικά, η επάρκεια 3 περιπτώσεων κρίθηκε μη ικανοποιητική κατά την επανεκτίμηση, ενώ οι υπόλοιπες δύο περιπτώσεις δεν ήταν διαθέσιμες για αξιολόγηση στη τυφλή μελέτη επανεκτίμησης.

Πίνακας 8 Μελέτη επανεκτίμησης: Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας για 209 περιπτώσεις αρχικά HSIL+ που επανεκτιμήθηκαν με τα περισσότερο άκαμπτα κριτήρια αναφοράς, με τη συμμετοχή τριών ανεξάρτητων παθολογοανατόμων αναφοράς

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία	153	26	179
	Σφάλμα	24	6	30
		177	32	209

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 26
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 24

Ο πίνακας 8 εμφανίζει αποτελέσματα για περιπτώσεις που αναγνωρίστηκαν από τον παθολογοανατόμο αναφοράς ως HSIL+. Το σφάλμα περιλαμβάνει τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS και LSIL. Στη σύγκριση αυτή, η διάγνωση LSIL θεωρήθηκε ότι αποτελεί διαγνωστικό σφάλμα έναντι περίπτωσης που ορίστηκε ως HSIL+ από τον ανεξάρτητο παθολογοανατόμο αναφοράς. Η σύγκριση των διαγνωστικών ευαισθησιών επέδειξε στατιστική ισοδυναμία των δύο μεθόδων.

Πίνακας 9 Μελέτη επανεκτίμησης: Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας για περιπτώσεις καρκίνου (η διάγνωση HSIL δεν είναι σφάλμα, ενώ η LSIL θεωρείται σφάλμα)

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία	32	3	35
	Σφάλμα	3	0	3
		35	3	38

Επιτυχία = Καρκίνος
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 3
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 3

Ο πίνακας 9 εμφανίζει αποτελέσματα (από όλα τα κέντρα) για περιπτώσεις που έχουν κριθεί με τη νέα μέθοδο αναφοράς ως καρκίνοι. Τα σφάλματα περιλαμβάνουν τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS και LSIL. Ένα σφάλμα προέκυψε από ερμηνεία διάγνωσης για LSIL. Όλα τα υπόλοιπα σφάλματα συμπεριέλαβαν την ερμηνεία των αντικειμενοφόρων πλακών ως διαγνώσεις ASCUS/AGUS ή WNL. Η ανάλυση ευαισθησίας των σφαλμάτων ασυμφωνίας επέδειξε στατιστική ισοδυναμία των μεθόδων.

Η τυφλή επανεκτίμηση συμπεριέλαβε 2097 νέες περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για να καταστήσουν εκ νέου τυφλά τα αρχικά δείγματα HSIL+. Η ανάλυση και η σύγκριση των παρασκευασμάτων από τις νέες αυτές περιπτώσεις ακολουθεί στον πίνακα 10.

Πίνακας 10 Μελέτη επανεκτίμησης: Σύγκριση 2097 αποτελεσμάτων απευθείας από τα κέντρα μελέτης — Χωρίς παθολογοανατόμο αναφοράς

		Παραδοσιακά παρασκευασμένο επίχρισμα Παπανικολάου						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Σύνολο
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα 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 2097 νέες περιπτώσεις που περιγράφονται παραπάνω, οι 77 διαγνώστηκαν ως HSIL+ από τους παθολογοανατόμους αναφοράς. Ο πίνακας 11 αναπαριστά την ανάλυση ευαισθησίας για αυτές τις 77 HSIL+ περιπτώσεις.

Πίνακας 11 Μελέτη επανεκτίμησης: Σύγκριση των αποτελεσμάτων όλων των κέντρων μελέτης για περιπτώσεις που προσδιορίστηκαν από τη μέθοδο αναφοράς ως HSIL+ Ανάλυση σφαλμάτων ασυμφωνίας (η διάγνωση LSIL θεωρήθηκε ως σφάλμα σε αυτή την ανάλυση)

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα		
		Επιτυχία	Σφάλμα	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®	Επιτυχία	25	21	46
	Σφάλμα	21	10	31
		46	31	77

Επιτυχία = HSIL+
Σφάλμα = WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS & LSIL

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar: $\chi^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Σφάλματα παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας: 21
Σφάλματα αντικειμενοφόρου πλάκας SurePath®: 21

Η ανάλυση των σφαλμάτων ασυμφωνίας στον πίνακα 11 επέδειξε έναν ίσο αριθμό απωλειών HSIL+ και για τις δύο μεθόδους παρασκευής. Το σφάλμα περιλαμβάνει τις κατηγορίες WNL, Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές, ASCUS/AGUS και LSIL. Η στατιστική δοκιμασία κατέδειξε ισοδυναμία μεταξύ των δύο μεθόδων στη μελέτη με σχεδιασμό διαχωρισμού δείγματος, ακόμη και όταν η διάγνωση LSIL θεωρήθηκε σφάλμα στις περιπτώσεις με τιμή αναφοράς τη διάγνωση HSIL+.

Ο πίνακας 12 συνοψίζει τις περιγραφικές διαγνώσεις των καλοήθων ευρημάτων σε όλα τα κέντρα της μελέτης.

Πίνακας 12 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Περίληψη των καλοήθων κυτταρικών μεταβολών

Περιγραφική διάγνωση (Αρ. ασθενών: 8,807)	SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα	
	N	%	N	%
Καλοήθεις κυτταρικές μεταβολές *Λοίμωξη:				
Είδη <i>Candida</i>	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Έρπης	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
**Αντιδραστικής/Διορθωτικής φύσεως μεταβολές	424	4,8	319	3,6

* Για την κατηγορία λοίμωξη που βρίσκεται παραπάνω, αναφέρονται όλες οι παρατηρήσεις λοιμογόνων παραγόντων. Περισσότερες από μία τάξεις μικροοργανισμών μπορεί να αντιπροσωπεύονται ανά περίπτωση.

** Οι αντιδραστικές ή διορθωτικές μεταβολές συμπεριελάμβαναν αντιδραστικές μεταβολές που συσχετίζονταν με φλεγμονή, ατροφική κολπίτιδα, ακτινοβολία και χρήση ενδομητρίου σπειράματος, όπως επίσης και τυπικές μεταβολές διόρθωσης, με συμμετοχή πλακωδών, πλακωδών μεταπλαστικών, ή κυλινδρικών επιθηλιακών κυττάρων.

Συνολικά 8.807 περιπτώσεις έτυχαν “ικανοποιητικής” αξιολόγησης, είτε από τα κέντρα δοκιμής είτε από το κέντρο αναφοράς. Σε άλλα 239 δείγματα η αξιολόγηση κρίθηκε ως “μη ικανοποιητική”, είτε από τα κέντρα δοκιμής είτε από το κέντρο αναφοράς, ή και αμφότερα, όσον αφορά τη μία εκ των δύο ή και τις δύο μεθόδους παρασκευής. Από τις 239 περιπτώσεις με μη ικανοποιητική αξιολόγηση, οι 151 σημειώθηκαν μόνο στις παραδοσιακά προετοιμασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες, οι 70 μόνο στις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath® και 18 παρατηρήθηκαν και με τα δύο είδη αντικειμενοφόρων πλακών, τις παραδοσιακές και τις SurePath®. Όλες οι μη ικανοποιητικές περιπτώσεις αποκλείστηκαν από τη διαγνωστική σύγκριση που έγινε βάσει των κατηγοριών του συστήματος Bethesda, αλλά προστέθηκαν εκ νέου για σύγκριση της επάρκειας των παρασκευασμάτων.

Οι πίνακες 13 με 16 δείχνουν τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της επάρκειας των παρασκευασμάτων για όλα τα κέντρα μελέτης.

Πίνακας 13 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Αποτελέσματα επάρκειας παρασκευασμάτων

Επάρκεια παρασκευάσματος (Αρ. ασθενών: 9,046)	SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα PrepStain®		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα	
	N	%	N	%
Ικανοποιητική	7.607	84,1	6.468	71,5
Ικανοποιητική, αλλά περιορίζεται από τα κάτω:	1.385	15,3	2.489	27,5
Απουσία υλικού από τον ενδοτράχηλο	1.283	14,2	1.118	12,4
Τεχνούργημα από τη ξήρανση στον αέρα	0	0	17	0,2
Παχύ επίχρισμα	1	< 0,1	0	0
Αίμα που κρύβει το υλικό	53	0,6	121	1,3
Φλεγμονή που κρύβει το υλικό	102	1,1	310	3,4
Λίγα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα	4	< 0,1	7	0,1
Κυτταρόλυση	10	0,1	11	0,1
Απουσία κλινικού ιστορικού	0	0	0	0
Ακαθόριστα αίτια	60	0,7	1.018	11,3
Μη ικανοποιητική για εκτίμηση:	54	0,6	89	1,0
Απουσία υλικού από τον ενδοτράχηλο	42	0,5	42	0,5
Τεχνούργημα από τη ξήρανση στον αέρα	0	0	0	0
Παχύ επίχρισμα	0	0	2	< 0,1
Αίμα που κρύβει το υλικό	7	0,1	6	0,1
Φλεγμονή που κρύβει το υλικό	6	0,1	6	0,1
Λίγα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα	6	0,1	0	0
Κυτταρόλυση	0	0	1	< 0,1
Απουσία κλινικού ιστορικού	0	0	0	0
Ακαθόριστα αίτια	37	0,4	32	0,5

Σημείωση: Κάποιοι ασθενείς ανήκαν σε περισσότερες της μίας υποκατηγορίες.

Επιπρόσθετες μη ικανοποιητικές περιπτώσεις καθορίστηκαν από τον παθολογοανατόμο αναφοράς, και οι συνολικοί αριθμοί των μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων αντικατοπτρίζονται στον πίνακα 15. Για τον πίνακα αυτόν ισχύουν: SAT = Ικανοποιητικές, SBLB = Ικανοποιητικές αλλά με τους ακόλουθους περιορισμούς (κάποιες συγκεκριμένες καταστάσεις) και UNSAT = Μη ικανοποιητικές.

Πίνακας 14 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Περίληψη των αποτελεσμάτων επάρκειας των παρασκευασμάτων από όλα τα κέντρα των κλινικών δοκιμών

		Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα			
		SAT	SBLB	UNSAT	
SurePath® Slide προετοιμασμένη με σύστημα 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: Αποτέλεσμα του τεστ McNemar $\chi^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$
SBLB: Αποτέλεσμα του τεστ McNemar $\chi^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

Ο πίνακας 14 εμφανίζει αποτελέσματα από μια σύγκριση της επάρκειας των παρασκευασμάτων και για τις δύο μεθόδους παρασκευής. Οι περιπτώσεις που κρίθηκαν ως μη ικανοποιητικές και ως SBLB ήταν πολύ λιγότερες με τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®, σε σύγκριση με τις παραδοσιακά προετοιμασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες.

Πίνακας 15 Πρώτη μελέτη με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος: Σύγκριση μη ικανοποιητικών αποτελεσμάτων από τα κέντρα κλινικών δοκιμών και από το κέντρο αναφοράς

Παραδοσιακά προετοιμασμένη αντικειμενοφόρος πλάκα				
		SAT	UNSAT	
SurePath® Slide προετοιμασμένη η με σύστημα PrepStain®	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
			8.877	169

Αποτέλεσμα του τεστ McNemar $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

Ο πίνακας 15 εμφανίζει τη σύγκριση των ικανοποιητικών και μη ικανοποιητικών παρασκευασμάτων από τις εκτιμήσεις που έγιναν τόσο στα κέντρα δοκιμών όσο και στο κέντρο αναφοράς. Οι αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath® εμφανίζουν μια στατιστικά σημαντική μείωση των μη ικανοποιητικών περιπτώσεων, σε σύγκριση με τις παραδοσιακά προετοιμασμένες αντικειμενοφόρους πλάκες.

Πίνακας 16 Αποτελέσματα επάρκειας των παρασκευασμάτων ανά θέση — Ποσοστά επί των SBLB για την έλλειψη ενδοτραχηλικού στοιχείου (ECC)

Κέντρο	Περιπτώσεις	Αντικειμενοφόρος SurePath® SBLB χωρίς ECC N (%)	Παραδοσιακή αντικειμενοφόρος SBLB χωρίς 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)
Όλα τα κέντρα	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Η ανίχνευση κυττάρων του ενδοτραχήλου (πίνακας 16) ήταν διαφορετική στα διαφορετικά κέντρα δοκιμών. Υπήρξε μια συνολική διαφορά της τάξεως του 1,8% στην ανίχνευση κυττάρων του ενδοτραχήλου ανάμεσα στις μεθόδους παραδοσιακής παρασκευής επιχρίσματος Παπανικολάου και παρασκευής επιχρίσματος SurePath®, η οποία είχε βρεθεί να είναι παρόμοια σε προηγούμενες μελέτες που διεξήχθησαν με μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος.^{16,17}

Οι αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath® που παρήχθησαν με το σύστημα PrepStain® παράγουν παρόμοια αποτελέσματα με τα παραδοσιακά παρασκευασμένα επιχρίσματα Παπανικολάου, σε συγκρίσεις με διαχωρισμό δείγματος, σε μια ποικιλία πληθυσμών ασθενών και εργαστηριακών χώρων. Επιπρόσθετα, με τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®, οι μη ικανοποιητικές και οι SBLB περιπτώσεις ήταν σημαντικά λιγότερες, σε σύγκριση με τα παραδοσιακά παρασκευασμένα επιχρίσματα Παπανικολάου. Με βάση τα παραπάνω φαίνεται ότι η αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath® μπορεί να αντικαταστήσει το παραδοσιακά παρασκευασμένο επιχρίσμα Παπανικολάου για την ανίχνευση άτυπων κυττάρων, προκαρκινωματώδων αλλοιώσεων, καρκίνου του τραχήλου, καθώς και όλων των άλλων κυτταρολογικών κατηγοριών που προσδιορίζονται από το σύστημα Bethesda.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑΣ SUREPATH® SLIDE ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ PREPMATE® ΚΑΙ ΤΩΝ ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Η TriPath Imaging διεξήγαγε μια προοπτική, πολυκεντρική κλινική δοκιμή, για να εκτιμήσει δύο τροποποιήσεις της εγκεκριμένης από τον FDA διαδικασίας για την προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών SurePath®. Οι τροποποιήσεις της εγκεκριμένης από τον FDA διαδικασίας για την προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® έχουν ως εξής:

- Προσθήκη του παρελκόμενου PrepMate® (μέθοδος PrepMate®), το οποίο αυτοματοποιεί τα αρχικά, χειροκίνητα βήματα της εργαστηριακής διαδικασίας PrepStain®. Το PrepMate® αναμειγνύει και απομακρύνει με αυτόματο τρόπο το δείγμα από τα SurePath® Preservative Vials (Φιαλίδια συντήρησης), ενώ επιστρέφει το δείγμα πάνω σε PrepStain® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας), εντός δοκιμαστικού σωλήνα.
- Προσθήκη της χειροκίνητης μεθόδου, στην οποία, αντί να χρησιμοποιηθεί το όργανο PrepStain® για το κυτταρικό εναιώρημα και τη χρώση του δείγματος, το κυτταρικό εναιώρημα επιστρέφεται χειροκίνητα πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα και η χρώση γίνεται από έναν τεχνικό εργαστηρίου.

Με τη παρούσα μελέτη εκτιμήθηκαν πάνω από 400 περιπτώσεις με τυφλή σύγκριση των δύο εναλλακτικών μεθόδων προς την τρέχουσα εγκεκριμένη διαδικασία για την προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών SurePath®. Η σύγκριση βασίστηκε σε μορφολογικά και ποιοτικά κριτήρια που εφαρμόστηκαν στις αντικειμενοφόρους πλάκες που προετοιμάστηκαν με κάθε μέθοδο.

Οι κύριοι στόχοι της μελέτης ήταν:

- Η εκτίμηση από μορφολογικής και ποιοτικής σκοπιάς των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® που προετοιμάστηκαν με τη χρήση της μεθόδου PrepMate®, σε σύγκριση με τις αντικειμενοφόρους πλάκες που προετοιμάστηκαν σύμφωνα με την εγκεκριμένη μέθοδο με χρήση του συστήματος PrepStain® (αναφέρεται ως μέθοδος PrepStain®).
- Η εκτίμηση από μορφολογικής και ποιοτικής σκοπιάς των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® που προετοιμάστηκαν με τη χρήση της χειροκίνητης μεθόδου σε σύγκριση με τις αντικειμενοφόρους πλάκες που προετοιμάστηκαν σύμφωνα με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®.

Επιπρόσθετοι στόχοι της μελέτης ήταν:

- Να καθοριστεί το εάν το ποσοστό συμφωνίας μεταξύ της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® και της μεθόδου PrepMate® ήταν μεγαλύτερο από αυτό που θα αναμενόταν, αν η οποιαδήποτε διαφωνία οφειλόταν αποκλειστικά στην τύχη.
- Να καθοριστεί το εάν το ποσοστό συμφωνίας μεταξύ της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain® και της χειροκίνητης μεθόδου ήταν μεγαλύτερο από αυτό που θα αναμενόταν, αν η οποιαδήποτε διαφωνία οφειλόταν αποκλειστικά στην τύχη.
- Η αξιολόγηση της επάρκειας του δείγματος σύμφωνα με τα πρότυπα του συστήματος PrepStain® για την προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® με χρήση της μεθόδου PrepMate®.
- Η αξιολόγηση της επάρκειας του δείγματος σύμφωνα με τα πρότυπα του συστήματος PrepStain®, για την προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® με χρήση της χειροκίνητης μεθόδου.

ΠΑΡΕΛΚΟΜΕΝΟ PREPMATE®

Το PrepMate® είναι παρελκόμενο του συστήματος PrepStain®, το οποίο αυτοματοποιεί δύο χειροκίνητα βήματα—την ανάμειξη του δείγματος και την επιστροφή—της εργαστηριακής διαδικασίας PrepStain®. Το PrepMate® αναμειγνύει πλήρως και απομακρύνει με ακρίβεια το δείγμα από τα SurePath® Preservative Vials (Φιαλίδια συντήρησης) και επιστρέφει το δείγμα πάνω σε PrepStain® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας), εντός δοκιμαστικού σωλήνα. Ένας στατήρας δειγμάτων, προφορτωμένος με φιαλίδια δείγματος, με πιπέτες / σύριγγες και με δοκιμαστικά σωληνάρια (που περιέχουν το υγρό πυκνότητας), τοποθετείται στο δίσκο του οργάνου. Ο στατήρας περιέχει έως και δώδεκα φιαλίδια, σωληνάρια και πιπέτες / σύριγγες, που είναι διευθετημένα σε τρεις σειρές των τεσσάρων για κάθε είδος. Τα φιαλίδια, οι πιπέτες / σύριγγες και τα σωληνάρια είναι αναλώσιμα. Πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο μία φορά, ώστε να αποκλείεται η πιθανότητα μόλυνσης των δειγμάτων.

ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Η χειροκίνητη μέθοδος χρησιμοποιεί μια χειροκίνητη διαδικασία για την επιστροφή του κυτταρικού εναιωρήματος πάνω στις αντικειμενοφόρους πλάκες και τη χρώση του παρασκευάσματος. Οι διαδικασίες συλλογής και επεξεργασίας των γυναικολογικών δειγμάτων είναι πανομοιότυπες, τόσο για τη χειροκίνητη όσο και για την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®, μέχρι του σημείου όπου χρησιμοποιείται το όργανο PrepStain®.

Στη μέθοδο PrepStain®, τα φυγοκεντρισμένα κυτταρικά ιζήματα τοποθετούνται απευθείας πάνω στο όργανο PrepStain® για αυτόματη επεξεργασία, η οποία παράγει τις χρωστισμένες αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®.

Στη χειροκίνητη μέθοδο, προστίθεται αποιονισμένο νερό στο φυγοκεντρισμένο κυτταρικό ιζήμα και ακολουθεί περιδίνηση, με σκοπό την επαναιώρηση και την τυχαιοποίηση του δείγματος. Το υλικό του δείγματος εν συνεχεία μεταφέρεται σε θάλαμο καθίζησης που είναι στερεωμένος πάνω σε πλάκα SurePath® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα). Μετά τη σταθεροποίηση του δείγματος επί της αντικειμενοφόρου πλάκας, ακολουθεί η χρώση του δείγματος μέσω μιας διαδικασίας παρτίδας με χρώση Παπανικολάου.

ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΩΝ ΠΛΑΚΩΝ

Ο πίνακας 17 δείχνει τη συνολική κατάσταση των αντικειμενοφόρων πλακών όσον αφορά τις αντικειμενοφόρους πλάκες των κλινικών δοκιμών. Αξίζει να σημειωθεί ότι το σετ στη μελέτη αποτελείται από **τρεις αντικειμενοφόρους πλάκες ανά περίπτωση**.

Πίνακας 17 Συνολική κατάσταση αντικειμενοφόρων πλακών

	Περιπτώσεις	Αντικειμενοφόροι πλάκες
Συνολικός αριθμός που συμπεριλήφθηκε στη μελέτη	471	1.413
Συνολικός αριθμός που αποκλείστηκε από την ανάλυση	-68	-204
Ανεπαρκής τεκμηρίωση	-39	-117
Ακατάλληλη προετοιμασία αντικειμενοφόρων πλακών	-24	-72
Άλλοι λόγοι αποκλεισμού *	-5	-15
Συνολικός αριθμός που συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση	403	1.209

* Απώλειες δειγμάτων, διπλοκαταχωρήσεις ασθενών, κτλ.

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ

Ο πίνακας 18 παραθέτει το δημογραφικό στοιχείο της ηλικίας των ασθενών για όλες τις περιπτώσεις που συμπεριλαμβάνονται στον υπό μελέτη πληθυσμό.

Πίνακας 18 Δημογραφικά στοιχεία πληθυσμού

Ηλικία	Αριθμός περιπτώσεων
19 ή λιγότερο	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Σύνολο	403

Ο πίνακας 19 παραθέτει τις τρέχουσες κλινικές πληροφορίες και ο πίνακας 20 παραθέτει το κλινικό ιστορικό για όλες τις περιπτώσεις που συμπεριλαμβάνονται στον υπό μελέτη πληθυσμό. Σημειώστε ότι επιτράπηκε η επιλογή περισσοτέρων των ενός αντικειμένων, οπότε ο συνολικός αριθμός των υπολογισμένων περιπτώσεων ίσως να μη σχετίζεται με τον πραγματικό συνολικό αριθμό των περιπτώσεων στον υπό μελέτη πληθυσμό.

Πίνακας 19 Τρέχουσες κλινικές πληροφορίες

Κλινικές πληροφορίες	Αριθμός περιπτώσεων
Με φυσιολογικό κύκλο	241
Με ανώμαλο κύκλο	69
Ιστορικό υστερεκτομής	16
Εγκυμοσύνη	9
Μετά από άμβλωση	0
Μετά από τοκετό	9
Μετά την εμμηνόπαυση	58
Περί την εμμηνόπαυση	1
Ανοσοκαταστολή	0
Μη φυσιολογικός γυναικείος φαινότυπος	0
Κολπόρροια	137
Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης	19
Χρήση ενδομήτριου σπειράματος	2
Από του στόματος αντισυλληπτικά/Εμφύτευμα	20
Χωρίς αντισύλληψη	181
Δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα	22

Πίνακας 20 Κλινικό ιστορικό

Ιστορικό	Αριθμός περιπτώσεων
Προηγούμενη παθολογική κυτταρολογική εξέταση	13
Ιστορικό μη φυσιολογικής αιμορραγίας	36
Βιοψία	3
Ιστορικό καρκίνου	1
Χημειοθεραπεία	0
Ακτινοβολία	0
Κολποσκόπηση	9
Λοίμωξη από HIV/AIDS	0
Λοίμωξη από HPV (Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων)	0
Έρπης	1
Ιστορικό BTL*	1
Ιστορικό PID**	57
Ουδέν σημειωτέον	363

- * Απολίνωση σάλπιγγων άμφω
- * Πυελική φλεγμονώδης νόσος

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο σκοπός της μελέτης αυτής ήταν να αποδείξει ότι οι αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath®, προετοιμασμένες με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο, υπερτερούσαν στη σύγκριση με εκείνες που παρασκευάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Τα κλινικά δεδομένα δείχνουν ότι οι αντικειμενοφόροι πλάκες που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο είναι συγκρίσιμες ως προς τη μορφολογία και την ποιότητα με εκείνες που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®.

Τα κλινικά δεδομένα δείχνουν επίσης ότι η διαγνωστική απόδοση είναι η ίδια για τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο, όταν συγκρίνονται με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Επιπρόσθετα, η επάρκεια των αντικειμενοφόρων πλακών που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο δε διαφέρει από εκείνων που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν τη συγκρισιμότητα της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου έναντι της εγκεκριμένης μεθόδου PrepStain®.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΠΟΙΟΤΗΤΑ

Ο πίνακας 21 εμφανίζει τα αποτελέσματα για τους κύριους στόχους. Η δυνατότητα αποδοχής των αντικειμενοφόρων πλακών, όπως προετοιμάστηκαν με κάθε μέθοδο χωριστά, εκτιμήθηκε με βάση τη μορφολογία και τα κριτήρια ποιότητας που εμφανίζονται στον πίνακα. Για κάθε εφαρμζόμενο κριτήριο, υπολογίστηκε το ποσοστό των αποδεκτών αντικειμενοφόρων πλακών, μαζί με το αντίστοιχο ακριβές διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 21 Σύγκριση ποσοστών και διαστημάτων εμπιστοσύνης (CI) για τα κριτήρια αποδοχής

Μέθοδος προετοιμασίας αντικειμενοφόρου πλάκας							
Κριτήρια αποδοχής	PrepStain®		PrepMate®		Χειροκίνητη μέθοδος		
	Ποσοστό (n/N)	Ακριβές CI 95%	Ποσοστό (n/N)	Ακριβές CI 95%	Ποσοστό (n/N)	Ακριβές CI 95%	
	Χρώση	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Διαύγεια	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Πυρήνας	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Κυτταρολογία	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Συσσωμάτωση	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Κυτταροβρίθεια	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Τα ποσοστά αποδοχής της μεθόδου PrepMate® και της χειροκίνητης μεθόδου είναι σχεδόν πάντοτε ίσα, αν όχι μεγαλύτερα, από εκείνα της μεθόδου PrepStain®. Επιπρόσθετα, τα ακριβή διαστήματα εμπιστοσύνης 95% για τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο ουσιαστικά επικαλύπτουν εκείνα από την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain® για κάθε εφαρμζόμενο κριτήριο. Αυτό δείχνει ότι οι αντικειμενοφόροι πλάκες που προετοιμάστηκαν με τη μέθοδο PrepMate® και τη χειροκίνητη μέθοδο είναι συγκρίσιμες ως προς τη μορφολογία και την ποιότητα με εκείνες που προετοιμάστηκαν με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Επομένως, η ποιότητα του παρασκευάσματος είναι η ίδια, είτε η παρασκευή γίνεται με την εγκεκριμένη μέθοδο είτε με τις δύο υπό δοκιμή μεθόδους.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΣΥΜΦΩΝΙΑ

Η ανάλυση αυτή συγκρίνει τις διαγνώσεις επί των αντικειμενοφόρων πλακών που προετοιμάστηκαν με κάθε μέθοδο ξεχωριστά. Επειδή αυτά τα δεδομένα παράγονται από δείγματα που έχουν διαχωριστεί, οι διαγνώσεις των μητρών που παρουσιάζονται στους πίνακες 22 και 23 βασίζονται σε ζευγαρωτά δείγματα στα οποία εφαρμζήθηκαν και συγκρίθηκαν οι ξεχωριστές υπό δοκιμή μέθοδοι προετοιμασίας αντικειμενοφόρων πλακών (μέθοδος PrepMate® και χειροκίνητη μέθοδος) με την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain®. Στην ιδανική περίπτωση, η διάγνωση επί των αντικειμενοφόρων πλακών που προετοιμάστηκαν με τις δύο μεθόδους θα είναι η ίδια. Ο βαθμός διαγνωστικής συμφωνίας αντιπροσωπεύεται από τον αριθμό των αντικειμενοφόρων πλακών με πανομοιότυπες διαγνώσεις, που εμφανίζονται στην κύρια διαγώνιο κάθε πίνακα.

Η πρώτη μέτρηση της συμφωνίας γίνεται από το ποσοστό των αντικειμενοφόρων πλακών πάνω στη κύρια διαγώνιο και τα αντίστοιχα ακριβή διαστήματα εμπιστοσύνης 95%. Η δεύτερη μέτρηση της συμφωνίας λαμβάνεται από το δείκτη συμφωνίας kappa, ο οποίος υπολογίστηκε για κάθε σύγκριση και εν συνεχεία ελέγχθηκε. Η δοκιμασία καθορίζει το εάν το ποσό της συμφωνίας μεταξύ των δύο μεθόδων είναι μεγαλύτερο από αυτό που θα αναμενόταν, αν οποιαδήποτε διαφωνία οφειλόταν αποκλειστικά στην τύχη. Επειδή οι παρατηρήσεις είναι διατεταγμένες, είναι πιο σημαντικό να έχουμε παρατηρήσεις οι οποίες βρίσκονται πάνω ή εγγύς της κύριας διαγωνίου. Ο σταθμισμένος δείκτης kappa δίνει περισσότερο βάρος σε παρατηρήσεις που βρίσκονται επί ή εγγύς της κύριας διαγωνίου στους πίνακες.

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΕΓΓΕΚΡΙΜΕΝΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ PREPSTAIN® ΚΑΙ PREPMATE®

Στον πίνακα 22, ο αριθμός των αντικειμενοφόρων πλακών επί της κυρίας διαγωνίου είναι 367 (2+334+8+6+5+11+1) και το ποσοστό των αντικειμενοφόρων πλακών επί της κυρίας διαγωνίου είναι 0,9107 (367/403), με 95% ακριβή όρια εμπιστοσύνης 0,8785 - 0,9366.

Εάν αποκλειστούν οι μη ικανοποιητικές αντικειμενοφόροι πλάκες από τον πίνακα, σβήνοντας την πρώτη γραμμή και την πρώτη στήλη, τότε παραμένουν 397 αντικειμενοφόροι πλάκες. Το ποσοστό των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται πάνω στην κύρια διαγώνιο είναι 0,9194 (365/397), με 95% όρια εμπιστοσύνης 0,8881 - 0,9442.

Τα αποτελέσματα που φαίνονται στον πίνακα 22 δείχνουν ότι οι εγκεκριμένες μέθοδοι PrepStain® και PrepMate® εμφανίζουν υψηλό ποσοστό διαγνωστικής συμφωνίας στις αντικειμενοφόρους πλάκες τους, όπως φαίνεται από την αναλογία των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται επί της κυρίας διαγωνίου στον πίνακα. Επιπρόσθετα, η σταθμισμένη ανάλυση kappa υποδεικνύει ότι η συμφωνία υπήρχε σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό απ' όσο θα αναμενόταν, αν η οποιαδήποτε διαφωνία οφειλόταν αποκλειστικά στην τύχη.

Πίνακας 22 Διαζωνική ταξινόμηση (Crosstabulation) των διαγνώσεων με τις μεθόδους PrepStain® και PrepMate®

		Διάγνωση με τη μέθοδο PrepStain®									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Ατυπία	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Σύνολο
Διάγνωση με τη μέθοδο BD 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
	Ατυπία	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
	Σύνολο	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΕΓΓΕΚΡΙΜΕΝΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ PREPSTAIN® ΚΑΙ ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στον πίνακα 23, ο αριθμός των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται επί της κυρίας διαγωνίου είναι 353 (3+315+6+10+7+11+1). Η αναλογία των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται επί της κυρίας διαγωνίου είναι 0,8759 (353/403). Τα ακριβή διωνυμικά όρια εμπιστοσύνης 95% για την αναλογία αυτή είναι 0,8397 - 0,9065.

Εάν αποκλειστούν οι μη ικανοποιητικές αντικειμενοφόροι πλάκες από τον πίνακα, σβήνοντας την πρώτη γραμμή και την πρώτη στήλη, τότε παραμένουν 398 αντικειμενοφόροι πλάκες. Η αναλογία των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται πάνω στην κυρία διαγώνιο είναι 0,8794 (350/398), με 95% όρια εμπιστοσύνης 0,8433 - 0,9097. Τα αποτελέσματα που φαίνονται στον πίνακα 23 δείχνουν ότι εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® και η χειροκίνητη μέθοδος εμφανίζουν υψηλό ποσοστό διαγνωστικής συμφωνίας στις αντικειμενοφόρους πλάκες τους, όπως φαίνεται από την αναλογία των αντικειμενοφόρων πλακών που βρίσκονται επί της κυρίας διαγωνίου στον πίνακα. Επιπρόσθετα, η σταθμισμένη ανάλυση kappa υποδεικνύει ότι η συμφωνία υπήρχε σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό απ' όσο θα αναμενόταν, αν η οποιαδήποτε διαφωνία οφειλόταν αποκλειστικά στην τύχη. Επομένως, η απόδοση της διάγνωσης είναι η ίδια είτε η παρασκευή γίνεται με την εγκεκριμένη μέθοδο είτε με τις δύο υπό δοκιμή μεθόδους.

Πίνακας 23 Διαζωνική ταξινόμηση (Crosstabulation) των διαγνώσεων με τη μέθοδο PrepStain® και τη χειροκίνητη μέθοδο

Διάγνωση με τη μέθοδο PrepStain®										
	Unsat	WNL	BCC-RR	Ατυπία	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Σύνολο
Διάγνωση με χειροκίνητη μέθοδο	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
	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	0	1

ΕΠΑΡΚΕΙΑ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΩΝ ΠΛΑΚΩΝ

Η επάρκεια των αντικειμενοφόρων πλακών εκτιμήθηκε για κάθε μια από τις μεθόδους παρασκευής. Τα δεδομένα αναλύθηκαν με τη χρήση ελέγχου McNemar διπλής κατεύθυνσης.¹⁸

Ο πίνακας 24 εμφανίζει τα αποτελέσματα επάρκειας όταν συγκρίνονται η εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® με τη μέθοδο PrepMate®.

Πίνακας 24 Αποτελέσματα επάρκειας για τις αντικειμενοφόρους πλάκες των μεθόδων PrepMate® και PrepStain®

		PrepStain®		
		Αποτέλεσμα μεθόδου	SAT ή SBLB	
Αποτέλεσμα μεθόδου PrepMate®	SAT ή SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

Ο πίνακας 25 εμφανίζει τα αποτελέσματα επάρκειας όταν συγκρίνονται η εγκεκριμένη μέθοδος PrepStain® με τη χειροκίνητη μέθοδο.

Πίνακας 25 Αποτελέσματα επάρκειας για τις αντικειμενοφόρους πλάκες της χειροκίνητης μεθόδου και της μεθόδου PrepStain®

		PrepStain®		
		Αποτέλεσμα μεθόδου	SAT ή SBLB	
Αποτέλεσμα χειροκίνητης μεθόδου	SAT ή SBLB	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

Οι δύο αυτές συγκρίσεις καταδεικνύουν ότι η μέθοδος PrepMate® και η χειροκίνητη μέθοδος δε διαφέρουν από την εγκεκριμένη μέθοδο PrepStain® όσον αφορά την επάρκεια των αντικειμενοφόρων πλακών.

ΜΕΛΕΤΗ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ - ΣΤΟ - ΦΙΛΛΑΙΔΙΟ

Σε συνέχεια της αρχικής έγκρισης από τον FDA για το σύστημα PrepStain®, η TriPath Imaging διεξήγαγε μια μεγάλη, πολυκεντρική μελέτη για το σύστημα PrepStain®, όταν αυτό χρησιμοποιείται ως ενδείκνυται με υλικό που χρησιμοποιείται απευθείας στο φιαλίδιο. Οι προηγούμενες κλινικές μελέτες χρησιμοποίησαν μεθοδολογία διαχωρισμού δείγματος, όπου το δείγμα πρώτα χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία μιας παραδοσιακά προετοιμασμένης αντικειμενοφόρου πλάκας με επίχρισμα Παπανικολάου, ενώ το δείγμα που περίσσευε τοποθετήθηκε στο υγρό συλλογής SurePath® και υπέστη επεξεργασία από το σύστημα PrepStain®, ώστε να δημιουργηθεί μια αντικειμενοφόρος πλάκα SurePath®. Έχει αποδειχθεί με ρητό τρόπο ότι οι σχεδιασμοί μελετών με διαχωρισμό δείγματος υποεκτιμούν την πραγματική απόδοση της δοκιμασίας που προετοιμάζεται από το υπολειπόμενο κυτταρικό υλικό.¹²

Η παρούσα μελέτη συγκρίνει την απόδοση των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath®, που παρήχθησαν από δείγματα απευθείας στο φιαλίδιο, έναντι των παραδοσιακά παρασκευασμένων επιχρισμάτων Παπανικολάου. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν με τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath® συγκρίθηκαν με εκείνα που είχαν παραχθεί από μια ιστορική κοορτή παραδοσιακά παρασκευασμένων επιχρισμάτων Παπανικολάου. Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη αυτή εκτίμησε εάν οι αντικειμενοφόροι πλάκες SurePath® βελτίωσαν την ανίχνευση υγιεινού βαθμού πλακωδών ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων (HSIL), in-situ αδενοκαρκινώματος και καρκίνου (HSIL+). Συλλέχθησαν όλα τα διαθέσιμα δεδομένα βιοψιών και για τους δύο πληθυσμούς αντικειμενοφόρων πλακών.

Ο πληθυσμός SurePath® αποτελείται από 58.580 αντικειμενοφόρους πλάκες που συλλέχθησαν προοπτικά από 57 κλινικές, οι οποίες είχαν μεταβεί σε ποσοστό περίπου 100% από τη συλλογή υλικού για παραδοσιακό επίχρισμα Παπανικολάου σε συλλογή δείγματος για αντικειμενοφόρο πλάκα SurePath®. Τα δείγματα που συλλέχθησαν στις κλινικές αυτές εστάλησαν σε τρία κλινικά κέντρα για επεξεργασία.

Ο παραδοσιακός πληθυσμός συνίστατο σε 58.988 αντικειμενοφόρους πλάκες προερχόμενες από τις ίδιες κλινικές με τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®. Αυτός ο ιστορικός πληθυσμός συλλέχθηκε ξεκινώντας με τις πιο πρόσφατες αντικειμενοφόρους πλάκες, πριν οι κλινικές να στραφούν στις SurePath®, και εν συνεχεία προχωρώντας πίσω στο χρόνο έως όπου οι πληθυσμοί παραδοσιακών και SurePath® αντικειμενοφόρων πλακών να είναι περίπου ίσοι σε αριθμό.

Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν μια συχνότητα ανίχνευσης της τάξης των 405/58.580 για τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®, σε σύγκριση με την αντίστοιχη συχνότητα που ήταν 248/58.988 για τις παραδοσιακές πλάκες. Τα ποσοστά ήταν αντίστοιχα 0,691% και 0,420% (βλ. Πίνακα 26). Για αυτά τα κλινικά κέντρα και τους υπό μελέτη πληθυσμούς, αυτό δείχνει μια αύξηση της τάξεως του 64,4% (p<0,00001) στην ανίχνευση των αλλοιώσεων HSIL+, για τις αντικειμενοφόρους πλάκες SurePath®.

Πίνακας 26 Σύγκριση των ποσοστών ανίχνευσης ανά κέντρο HSIL+

Κέντρο	Παραδοσιακές			SurePath®		
	Σύνολο	HSIL+	Ποσοστό (%)	Σύνολο	HSIL+	Ποσοστό (%)
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

Κέντρο	Παραδοσιακές			SurePath®		
	Σύνολο	LSIL+	Ποσοστό (%)	Σύνολο	LSIL+	Ποσοστό (%)
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
Σύνολο	58.988	960	1,627	58.580	1.975	3,371

ASCUS+

Κέντρο	Παραδοσιακές			SurePath®		
	Σύνολο	ASCUS+	Ποσοστό (%)	Σύνολο	ASCUS+	Ποσοστό (%)
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

Μη ικανοποιητικές

Κέντρο	Παραδοσιακές			SurePath®		
	Σύνολο	UNSAT+	Ποσοστό (%)	Σύνολο	UNSAT+	Ποσοστό (%)
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: Αναμένεται να παρατηρηθούν μεταβολές στην απόδοση ανάμεσα στα κέντρα της μελέτης. Το προσωπικό κάθε εργαστηρίου θα πρέπει να παρακολουθεί με μεγάλη προσοχή την ποιότητα της εργασίας του

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ολοκληρωμένη περιγραφή των διαδικασιών για την προετοιμασία των αντικειμενοφόρων πλακών SurePath® παρέχεται στο εγχειρίδιο χειριστή για το σύστημα PrepStain®.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



ΕΠΙΩΝΥΜΙΑ ΚΑΙ ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΔΡΑ

TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Η ονομασία BD, το λογότυπο BD και η ονομασία BD ProbeTec είναι σήματα κατατεθέντα της εταιρείας Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

PrepStain® Sistemi Ürün Prospektüsü

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

KULLANIM AMACI

PrepStain® Sistemi sıvı bazlı ince katmanlı hücre hazırlama prosesidir. PrepStain® Sistemi, geleneksel jinekolojik Pap smirlerinin yerine geçmesi amaçlanan SurePath® slaytlarını üretir. SurePath® slaytlarının 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}

SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı), BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ ve *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri kullanılarak test edilen

jinekolojik numuneler için uygun bir toplama ve taşıma ortamıdır. Bu dizilerle kullanmak üzere numune hazırlamak için SurePath® Preservative Fluid'in (Koruyucu Sıvı) kullanımı hakkındaki talimatlar için dizi paketi belgelerine bakın.

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, diyagnostik materyalin yoğunlaştırılması, pipetleme, sedimantasyon, boyama ve lamele yerleştirme işlemlerini içerir.¹ SurePath® slaytı, 13 mm çapında bir daire içinde iyi korunmuş boyalı hücre popülasyonu oluşturur. Havayla kuruyan yapılar, engelleyici, üst üste binen hücre maddeleri ve debris büyük oranda elimine edilir. Akyuvarların sayısı önemli oranda düşürülerek epitelyal hücrelerin, diyagnostik açıdan 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) kullanan kalifiye sağlık personeliyle başlar. Numune alma cihazlarıyla toplanan hücreleri cam bir slayt üzerine yaymak yerine, numune alma cihazlarının başlıkları koldan çıkarılır ve SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) flakonuna konur. Flakonun kapağı kapatılır, etiketlenir ve ilgili belgelerle birlikte işlenmek üzere laboratuara gönderilir. Numune alma cihazlarının başlıkları toplanan numuneyi içeren koruyucu flakondan asla çıkarılmaz.

Laboratuarda, korunan numune vorteks* cihazıyla karıştırılır ve ardından PrepStain® Density Reagent'a (Dansite Reaktifi) aktarılır. Dansite Reaktifile santrifüjli sedimantasyondan oluşan yoğunlaştırma adımı, diyagnostik olmayan debris ve fazla endofamatuvar hücreler numuneden kısmen uzaklaştırılır. Santrifüj işleminden sonra paletli hücreler tekrar bekletilir, karıştırılır ve SurePath® PreCoat slaytına monte edilmiş PrepStain® Durulma Odasına aktarılır. Hücreler ağırlık ile çökeltilir, 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 patologlar tarafından mikroskopa incelenir.

* Not: Yardımcı testler için, SurePath® LBC Test işlemindeki bu vortekse tabi tutma işleminden sonra 0,5 mL'ye kadar parça çıkarılabilir.

KISITLAMALAR

- PrepStain® Sistemi 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 birlikte kullanılmamalıdır. Çıkarılabilir olmayan endoservikal fırça/plastik spatül kombinasyonları PrepStain® Sistemiyle birlikte kullanılmamalıdır.
- SurePath® slaytlarının üretimi ve değerlendirilmesi için yetkili kişilerden eğitim almak bir önkoşuldur. Sitoteknolog ve patologlar 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.
- SurePath® LBC Test işlemini gerçekleştirmek için SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'de (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) 8,0 ± 0,5 mL'lik bir numune toplanması gerekir.

Reaktifler



In Vitro Diyagnostik Kullanım içindir. Yalnızca laboratuarda kullanılmak içindir.

Uyarılar



SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) sulu denatüre etanol çözeltisi içerir. Karışım küçük miktarlarda metanol ve izopropanol içerir. Yutmayın.



PrepStain® Density Reagent (Dansite Reaktifi) 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. Hastalık 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 yamıcıdır.

ÖNLEMLER

- İyi laboratuvar uygulamaları izlenmelidir ve PrepStain® Sisteminin kullanımı için tüm prosedürlere uyulmalıdır.
- Reaktifler oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) saklanmalı ve uygun performansın sağlanması için son kullanma tarihlerinden önce kullanılmalıdır. Sitolojik numuneler olmadan SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) için saklama koşulları imal tarihinden itibaren oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 36 aya kadardır. Sitolojik numuneler içeren SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) için saklama limiti soğutucu koşullarında (2 ° ila 10 °C) 6 ay veya oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 4 haftadır. BD ProbeTec™ CT Q⁺ ve GC Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri ile kullanılması amaçlanan sitolojik numune içeren SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) depolanabilir ve BD ProbeTec™ CT Q⁺ ve GC Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri için kullanılan Sıvı Bazlı Sitoloji Numunesi (LBC) Sulandırma Tüplerine taşımadan önce 2 ° – 30 °C'de 30 güne kadar saklanabilir.
- Siçramasını veya aerosollerin oluşumunu önleyin. Kullanıcılar uygun el, göz ve giysi koruması kullanmalıdır.
- SurePath® Preservative Fluid (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 numuneller 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.

İSTEĞE BAĞLI PARÇA ÇIKARMA

- SurePath® Pap Testi yapılmadan önce, SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'de (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) Pap testi için yeterli hacmin yanında yardımcı testler için 0,5 mL'ye kadar homojen hücre karışımı ve sıvısı çıkarılmasına yetecek hacim mevcuttur.
- Bir parçanın SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'den (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) çıkarılmasının sitoloji testleri açısından numunenin kalitesini etkilediğine dair hiçbir kanıt olmamasına rağmen, bu işlem sırasında uygun diyagnostik materyalin yanlış tahsis edilmesinin nadir örnekleri meydana gelebilir. Sağlık hizmeti sağlayıcıları, sonuçlar hastanın klinik geçmişi ile bağlantılı değilse yeni bir numune almaya ihtiyaç duyabilir. Ayrıca sitoloji cinsel yolla bulaşan hastalık (CYBH) testlerinden farklı sorulara yanıt verir; bu nedenle parça çıkarma tüm klinik durumlar için uygun olmayabilir. Gerekirse, SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'den (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) bir parça almak yerine CYBH testleri için ayrı bir numune alınabilir.
- Düşük hücreli numunelerden parça alınması, tatmin edici bir SurePath® Pap testinin hazırlanması açısından SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'de (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) yetersiz materyal bırakabilir.
- Parça SurePath® Pap testini gerçekleştirmeden önce çıkarılmalıdır. Parçanın hacminden bağımsız olarak, Pap Testini yapmadan önce SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'den (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) yalnızca bir numune parçası çıkarılabilir.

PROSEDÜR

- Homojen bir karışım elde edilebilmesi için, SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) 10-20 saniye boyunca vortekse tabi tutulmalı ve 0,5 mL'lik parça vortekse tabi tutulduktan sonra bir dakika içinde çıkarılmalıdır.
- Parça çıkarma için çekilmekte olan hacme uygun boyuttaki bir polipropilen aerosol bariyer pipeti kullanılmalıdır. *Not:* Serolojik pipetler kullanılmamalıdır. SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) toplama flakonuna veya parçaya kirleticilerin girmesini önlemek için iyi laboratuvar uygulamaları kullanılmalıdır. Parça çıkarma işlemi yükseltme yapılan bir alanın dışında uygun bir konumda yapılmalıdır.
- Pipetteki parça materyalini büyük sulu partiküllerin veya yarı katıların varlığını belirlemek üzere görsel olarak kontrol edin. Parça materyalini çekerken bu tür materyallerin varlığına ilişkin kanıtlarla karşılaşılması tüm materyalin numune flakonuna geri gönderilmesini ve numunenin Pap testi yapmadan önce yardımcı testler açısından reddedilmesini gerektirir.
- BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ ve *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri kullanılarak yapılan parça işleme hakkındaki talimatlar için dizi üreticisi tarafından sağlanan Paket Belgelerine bakın.

GEREKLİ MALZEMELER

Reaktifler, bileşenler ve aksesuarlara ilişkin tam bilgiler için PrepStain® Sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın. Aşağıda listelenen materyallerin tümü SurePath® slaytlarını manuel olarak (PrepStain® cihazını kullanmadan) hazırlarken gerekmemektedir.

Sağlanan Malzemeler

- PrepStain® Cihazı
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) (SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) içerir)
- Çıkarılabilir Başlıklı Servikal Numune Alma Cihazı/Cihazları
- PrepStain® Density Reagent (Dansite Reaktifi)
- PrepStain® Syringing Pipettes (Şırınga Pipetleri)
- PrepStain® Durultma Odaları
- Sitoloji Boyama Kiti
- SurePath® PreCoat slaytları
- Santrifüj Tüpleri
- Slayt ve Tüp Rafları
- Atılabilir Aktarma ve Aspiratör Uçları

Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler

- Vorteks Karıştırıcı
- Deiyonize Su (pH 7,5 ila 8,5)
- İzopropanol ve Reaktif Sınıfı Alkol
- Temizlik Ajanı, Sabitleme Ortamı ve Cam Lameller

Saklama

Sitolojik numuneler olmadan SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) için saklama koşulları imal tarihinden itibaren oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 36 aya kadardır.

Sitolojik numuneler içeren SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) için saklama limiti soğutucu koşullarında (2 ° ila 10 °C) 6 ay veya oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 4 haftadır.

BD ProbeTec™ CT Q⁺ ve GC Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri ile kullanılması amaçlanan sitolojik numune içeren SurePath® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) depolanabilir ve BD ProbeTec™ CT Q⁺ ve GC Q⁺ Yükseltilmiş DNA Dizileri için kullanılan Sıvı Bazlı Sitoloji Numunesi (LBC) Sulandırma Tüplerine taşımadan önce 2 ° – 30 °C'de 30 güne kadar saklanabilir.

TANISAL YORUMLAMA VE PREPARAT YETERLİLİĞİ

TriPath Imaging tarafından yetkilendirilmiş PrepStain® Sistemi ve SurePath® Slaytları üzerinde kullanıcı eğitiminden sonra, şu anda sitoloji laboratuvarlarında geleneksel Pap smirleri için kullanılan Bethesda Sistemi sitolojik diyagnostik kriterleri SurePath® slaytlarına uygulanabilir.¹ Bethesda 2001 Raporlama Sisteminde tavsiye edilen yeni kılavuzlarda sıvı bazlı preparatlarla 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:

(1) Diyagnostik hücrelerin sayısı yeterli değilse (her preparatta 5.000'den az skuamöz epitel hücre). Aşağıda SurePath® slaytlarında iyi korunmuş skuamöz epitel hücrelerin sayısını hesaplamaya 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® slaytının yaklaşık 130 mm²'lik hücre birikimi alanının spesifik mikroskobun saha alanına bölünmesiyle belirlenir. Daha sonra elde edilen sayı minimum 5000 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 mm²'lik bir preparat için alan başına düşen hücrelerin yaklaşık sayısını belirleyin Bethesda 2001 kılavuzları.

- Preparat çapının merkezi boyunca yatay ve dikey olarak minimum on alan sayılmalıdır.
- Selülaritenin değerlendirilmesinde bir uygulama yolu olarak, boyanan preparatın görsel dansitesinin makroskopik değerlendirmesi preparat üretimi çalışmalarının yeterliliğini kontrol etmede kullanılabilir. Ancak, tarama prosesi sırasında sitoteknologlar tarafından gerçekleştirilen mikroskopik değerlendirmenin yerine geçecek bir işlem bulunmamaktadır.

(2) 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 patoloğa 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 bölgede prospektif, maskeli, split-numune, ikili eşleştirilmiş klinik araştırma gerçekleştirmiştir. 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® Preservative Fluid Collection Vial'e (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) aktarılmıştır.

Laboratuara 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 bölgede, bir patoloğ tüm anormal slaytları değerlendirmiştir.

Shatzkin¹¹ tarafından açıklanan yöntemle tutarlı olarak, bu çalışmada atanan bir sevk bölgesinde her bir vaka için diyagnostik "gerçeği" sağlamak amacıyla tüm bölgelerden 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: Beyaz (%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 ulaşarak 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 bölgesinde 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 genelde atılmış olacaktır).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 bölgelerinde 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 bölge sonuçlarının karşılaştırılması için "gerçek" tanı veya referans değer olarak kullanılmıştır. Slayt preparatlarında iki yöntemin hassasiyetlerinin eşdeğer olduğuna dair geçersiz hipotez ikili veriler için McNemar ki-kare testi kullanılarak test edilmiştir.¹³ Bu istatistiksel testte iki preparat yönteminin farklı sonuçları karşılaştırılmıştır.

Tablo 1'de diyagnostik tedavi kategorileri için (Normal Limitler Dahilinde (WNL), Önemi 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 bölge sonuçlarının doğrudan karşılaştırması sunulmaktadır.

Tablo 1 İlk Split-Numune Çalışması: 8.807 Eşleştirilmiş Numune — Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması — Referans Patolog Yok

Bölgeye göre Sonuçlar								
Bölge 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 bölge sonuçlarının doğrudan bir karşılaştırması sunulmaktadır.

Tablo 2 İlk Split-Numune Çalışması: 8.807 Eşleştirilmiş Numune Tüm Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması —Referans Patolog 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 patolog sonucu yansıtılmamaktadır.

Tablo 3 İlk Split-Numune Çalışması: Referans Yöntemle ASCUS/AGUS olarak Atanan Vakalara yönelik Tüm Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması – Tutsarsız Hata Analizi

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
		113	205	318
		180	229	409
		293	434	727

Başarı = ASCUS/AGUS
Hata = WNL ve Reaktif/Reparatif

McNemar Testinin Sonucu: $X^2_{mc} = 1,62$; $p = 0,2026$
Geleneksel Slayt Hataları: 205
SurePath® Hataları: 180

Tablo 3’te referans patolog tarafından ASCUS veya AGUS olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Bu değerlendirme, split-numune çalışma tasarımında yöntemlerin hassasiyetini değerlendirmek için tutsarsız 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 Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması – Tutsarsız Hata Analizi

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
		140	63	203
		54	86	140
		194	149	343

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® Hataları: 54

Tablo 4’te referans patolog 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 Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması – Tutsarsız Hata Analizi (LSIL hata değildir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
		160	28	188
		36	38	74
		196	66	262

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® Hataları: 36

Tablo 5’te referans patolog tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Bu karşılaştırmada LSIL bir hata olarak değil farklılık olarak kabul edilmiştir. ^{10,14,15} Hata WNL, Reaktif/Reparatif ve ASCUS/AGUS’u kapsamaktadır. Tutsarsız hataların hassasiyet analizi split-numune çalışmasında yöntemlerin istatistiksel eşdeğerliğini göstermiştir.

Tablo 6 İlk Split-Numune Çalışması: Kanser Vakaları için Tutsarsız Hata Analizi (HSIL hata değildir; LSIL hata kabul edilir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
		19	2	21
		5	1	6
		24	3	27

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® Hataları: 5

Tablo 6’da referans yöntemle kanser olduğuna karar verilen vakalara ilişkin sonuçlar (tüm bölgelerin) gösterilmektedir. Hatalar, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL’yi kapsamaktadır. Tutsarsız 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 Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması – Tutsarsız Hata Analizi (LSIL bu analizde hata kabul edilmiştir)

Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt				
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	Hata		
		Başarı	Hata	
		94	33	127
		67	68	135
		161	101	262

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® Hataları: 67

Tablo 7’de referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Hata, 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+ anormallığının saptanması için geleneksel olarak hazırlanan Pap smearlerine eşdeğer olmayacaktır.

HSIL+ VAKALARININ MASKELİ YENİDEN DEĞERLENDİRMESİ

Sonuçların preparat kalitesi veya yorumun subjektifliğinden etkilenip etkilenmediğini belirlemek için yeni bir değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Orijinal çalışmada (Tablo 7) 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 maskelemiştir. İki preparata yönelik çalışma bölgesi 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 proste, 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	
		Başarı	Hata
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	153	26
	Hata	24	6
		177	32
		179	30
		209	

Başarı = HSIL+
Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $\chi^2_{mc} = 0,02$; $p = 0,8875$
Geleneksel Slayt Hataları: 26
SurePath® Hataları: 24

Tablo 8’de referans patoloğ tarafından HSIL+ olarak tanımlanan vakaların sonuçları gösterilmektedir. Hata, 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	
		Başarı	Hata
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	32	3
	Hata	3	0
		35	3
		38	

Başarı = Kanser
Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $\chi^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$
Geleneksel Slayt Hataları: 3
SurePath® Hataları: 3

Tablo 9’da referans yöntemle kanser olduğuna karar verilen vakalara ilişkin sonuçlar (tüm bölgelerin) 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 Bölge Sonuçlarının Karşılaştırması - Referans Patoloğ 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 patoloğlar 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 Bölge Sonuçlarının Karşılaştırılması – Tutarsız Hata Analizi (LSIL bu analizde hata kabul edilmiştir)

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt	
		Başarı	Hata
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	Başarı	25	21
	Hata	21	10
		46	31
		77	

Başarı = HSIL+
Hata = WNL, Reaktif/Reparatif ASCUS/AGUS ve LSIL

McNemar Testinin Sonucu: $\chi^2_{mc} = 0,00$; $p = 1,0000$
Geleneksel Slayt Hataları: 21
SurePath® Hataları: 21

Tutarsız hataların Tablo 11’deki analizi aynı sayıdaki HSIL+’nın her iki preparat yönteminde de eksik olduğunu göstermektedir. Hata, WNL, Reaktif/Reparatif, ASCUS/AGUS ve LSIL’yi kapsamaktadır. İstatistiksel test, LSIL, HSIL+ referans değerine karşı hata kabul edildiğinde bile split-numune tasarımında iki yöntem arasında eşdeğerlik kanıtlanmıştır.

Tablo 12’de tüm bölgeler 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 sınıfı temsil edilebilir.

** Reaktif reparatif değişiklikler, skuamöz, skuamöz metaplastik veya kolumnar epitel hücreleri içeren tipik onarım yanı sıra enflamasyon, atrofik vajinit, radyasyon ve IUD kullanımı ile ilişkilendirilen reaktif değişiklikleri içerir.

Toplam 8.807 vaka hem deney bölgelerinden, hem de referans bölgelerden “tatmin edici olmayan” hiçbir değerlendirme içermemiştir. Ek 239 numunenin, preparatlardan biri veya her ikisi üzerinde, ya deney bölgesinde ya da referans bölgede 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 bölgelere 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
Havayla Kuruyan 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
Havayla Kuruyan 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 patoloj tarafından belirlenmiştir; tatmin edici olmayan sonuçların toplam sayısı Tablo 15'te yansıtılmaktadır. Tabloda SAT = Tatmin edici, SBLB = Tatmin Edici Fakat Sınırlı (belirtilen bazı koşullarla) ve UNSAT = Tatmin edici olmayan şeklindedir.

Tablo 14 İlk Split-Numune Çalışması: Tüm Klinik Çalışma Bölgeleri Preparat Yeterliliği Sonuçlarının Özeti

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt			
		SAT	SBLB	UNSAT	
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	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: 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 Bölgelerinden ve Referans Bölgeden Tatmin Edici Olmayan Sonuçların Karşılaştırması

		Geleneksel olarak Hazırlanan Slayt		
		SAT	UNSAT	
PrepStain® ile Hazırlanan SurePath® Slaytı	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

McNemar Testinin Sonucu $X^2_{mc} = 29,69$; $p = 0,0000$

Tablo 15'te hem deney bölgelerinde hem de referans bölgede 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.

Tablo 16 Bölgeye göre Preparat Yeterliliği Sonuçları—Bulunmayan Endoservikal Bileşen (ECC) için SBLB Oranları

Bölge	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 Bölgeler	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Endoservikal hücrelerin saptanması (Tablo 16) farklı deney bölgelerine 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 prosedüre yapılan modifikasyonlar aşağıdaki gibidir:

- PrepStain® laboratuvar prosesinin başlangıç manuel adımlarını otomatikleştiren PrepMate® aksesuarının (PrepMate® yöntemi) eklenmesi. PrepMate®, örneği otomatik olarak karıştırır ve SurePath® Preservative Vial'lerden (Koruyucu Flakon) ayırır; örneği bir test tüpünde PrepStain® Density Reagent (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® Sitemi (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® Preservative Vial'lerden (Koruyucu Flakon) ayırır; örneği bir test tüpünde PrepStain® Density Reagent (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 içecek şekilde ayarlanan on iki flakon, tüp ve şırınga pipeti içerir. Flakonlar, şırınga pipetleri ve tüpler atılabilir niteliktedir. Örnek kontaminasyonu olasılığını elimine etm nlar 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 durultma 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 ögenin seçilmesine izin verildiğini unutmayın; bu nedenle toplam vaka sayısı çalışma popülasyonundaki toplam vaka sayısı ile örtüşmeyebilir.

Tablo 19 Mevcut Klinik Bilgiler

Klinik Bilgiler	Vaka Sayısı
Siklik	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 hazırlananlardan farklı değildir. Bu bulgular, PrepMate® yöntemi ve Manuel yöntemin onaylı PrepStain® yöntemiyle karşılaştırılabilir nitelikte olduğunu desteklemektedir.

ÖRNEK MORFOLOJİSİ VE KALİTESİ

Tablo 21’de birincil amaçların sonuçları gösterilmektedir. Yöntemlerin her biriyle hazırlanan slaytların kabul edilebilirliği tabloda 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® yöntemininkilerle 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.

DIYAGNOSTİK 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 tanımlar aynı olacaktır. Bu, aynı tanımlara 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 kapa istatistikinden 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 köşegenine yakın gözlemlerin olması çok daha önem taşımaktadır. Ağırlıklı kapa istatistiği tablolarında ana köşegenin üzerinde veya köşegenine yakın gözlemlere ağırlık vermektedir.

ONAYLI PREPSTAIN® YÖNTEMİ İLE PREPMATE® 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 tabloda ana köşegen üzerindeki slaytların oranıyla da gösterildiği gibi, diyagnostik uyuşmayla birlikte yüksek oranda slaytlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, ağırlıklı kapa analizi uyuşmanın tek başına tesadüfle ilişkilendirilebilmek için oldukça fazla olduğunu göstermektedir.

Tablo 22 PrepStain® ve PrepMate® Yöntemleri ile Tanıların Çapraz Tablosu

		PrepStain® Yöntemi Tanısı									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atipi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Toplam
PrepMate® Yöntemi Tanısı	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
	Atipi	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
	Toplam	5	348	12	17	9	11	0	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 0,8433 ile 0,9097 %95 güven limitleriyle birlikte 0,8794’tür (350/398). Tablo 23’te gösterilen sonuçlar, onaylı PrepStain® yöntemi ile Manuel yöntemin tabloda ana köşegen üzerindeki slaytların oranıyla da gösterildiği gibi, diyagnostik uyuşmayla birlikte yüksek oranda slaytlara sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, ağırlıklı kapa analizi uyuşmanın tek başına tesadüfle ilişkilendirilebilmek için oldukça fazla olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, diyagnostik performans onaylı yöntem ve iki test yöntemi için aynıdır.

Tablo 23 PrepStain® Yöntemi ile Manuel Yöntem Tanılarının Çapraz Tablosu

		PrepStain® Yöntemi Tanısı									
		Unsat	WNL	BCC-RR	Atipi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Toplam
Manuel Yöntem Tanısı	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
	Atipi	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
	Toplam	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

SLAYT YETERLİLİĞİ

Slayt yeterliliği hazırlama yöntemlerinin her biri için değerlendirilmiştir. Veriler iki taraflı McNemar testi kullanılarak analiz edilmiştir.¹⁸

Tablo 24’te onaylı PrepStain® yöntemiyle PrepMate® yönteminin karşılaştırılmasından çıkan yeterlilik sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 24 PrepMate® ve PrepStain® Yöntemi Slaytları için Yeterlilik sonuçları

		PrepStain® Yöntem Sonucu	
PrepMate® Yöntemi Sonucu	SAT veya SBLB	UNSAT	
	398	3	401
	0	2	2
	398	5	403

Tablo 25’te onaylı PrepStain® yöntemiyle Manuel yöntemin karşılaştırılmasından çıkan yeterlilik sonuçları gösterilmektedir.

Tablo 25 Manuel ve PrepStain® Yöntemi Slaytları için Yeterlilik sonuçları

		PrepStain® Yöntem Sonucu	
Manuel Yöntem Sonucu	SAT veya SBLB	UNSAT	
	398	2	400
	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 gerçekleştirilmiştir. 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 intraepitelial 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 tesisdeki geleneksel ve SurePath® slayt popülasyonları sayıca eşitlenene kadar geriye dönülmüştür.

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 Tesislere göre Saptanabilirlik Oranlarının Karşılaştırılması**HSIL+**

Bölge	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+

Bölge	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+

Bölge	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

Bölge	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: Performans bakımından sahadan sahaya değişiklikler beklenir. Her laboratuvar kendi çalışmasının kalitesini dikkatlice izlemekle yükümlüdür.

PROSEDÜR

SurePath® slaytlarının hazırlanmasına yönelik tam prosedürler PrepStain® Sistemi Kullanıcı Kılavuzunda verilmektedir.

BİBLİYOGRAFYA

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678

**ŞİRKETİN ADI VE YERİ**

TriPATH IMAGING, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215, ABD



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Tüm Hakları Saklıdır.

Bipacksedel till PrepStain®-systemet

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

AVSEDD ANVÄNDNING

PrepStain®-systemet är en vätskebaserad tunnlagerscellprepareringsprocess. PrepStain®-systemet ger SurePath® objektglas som är avsedda att ersätta konventionella gynekologiska cellprovstutryck. SurePath® objektglas är avsedda för användning vid screening och detektion av livmoderhalscancer, lesioner som utgör förstadiet till cancer, onormala celler och alla andra cytologiska kategorier som definierats i The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses (Bethesda-systemet för rapportering av cervikala/vaginala cytologiska diagnoser).^{1, 19}

SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) är ett lämpligt insamlings- och transportmedium för gynekologiska prover som testas med DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ och *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Se analysens bipacksedel för anvisningar om användning av SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) för preparering av prover för användning med dessa tester.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV PROCEDUREN

PrepStain®-systemet omvandlar en vätskesuspension av ett cervikalt cellprov i ett tydligt färgat, homogent, tunt cellager, samtidigt som diagnostiska cellkluster bibehålls.²⁻⁹ Processen består av cellkonservering, randomisering, berikning av det diagnostiska materialet, pipettering, sedimentering, färgning och täckning med täckglas för att skapa ett SurePath® objektglas för användning vid rutinmässig cytologisk screening och kategorisering enligt definitionerna i Bethesda-systemet.¹ SurePath® objektglas ger en välbevarad population färgade celler i en cirkel med 13 mm diameter. Lufttorkningsartefakter, skymmande, överlappande cellulärt material och rester elimineras i hög utsträckning. Antalet vita blodkroppar reduceras signifikant, vilket gör det lättare att visualisera 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 provtagningsenheten på ett objektglas, tas huvudena på provtagningsenheterna loss från handtagen och placeras i en flaska med SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska). Flaskan förses med lock, märks och skickas med lämpliga dokument till laboratoriet för bearbetning. Huvudena på provtagningsenheterna tas aldrig ut ur flaskan med konserveringsmedel med det tagna provet.

I laboratoriet blandas det konserverade provet genom vortexning* och överförs sedan till PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens). Ett berikningssteg, som består av centrifugsedimentering genom densitetsreagens, avlägsnar delvis icke-diagnostiska rester och överflödiga inflammatoriska celler från provet. Efter centrifugeringen återsuspenderas cellerna, som nu är i pelletform, blandas och överförs till en PrepStain® Settling Chamber (stagnationskammare) monterad på ett SurePath® PreCoat (förbeläggning) objektglas. Cellerna sedimenteras genom gravitation och färgas sedan med en modifierad Papanicolaou färgningsprocedur. Objektglaset rensas med xylol 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.

*Obs! För patientnära testning kan en alikvot på upp till 0,5 ml tas ut efter detta vortexningssteg i SurePath® LBC-testprocessen.

BEGRÄNSNINGAR

- Gynekologiska prover för preparering med PrepStain®-systemet skall 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 morfologibedömning på SurePath® objektglas. Denna utbildning innehåller även ett färdighetsprov. Laboratorierunder får möjlighet att använda träningsobjektglas och testset. TriPath Imaging, Inc. erbjuder också assistans med preparering av träningsobjektglas från varje kunds egna patientpopulationer.
- Korrekt prestanda på PrepStain®-systemet kräver att endast de engångsmaterial som stöds eller rekommenderas av TriPath Imaging för användning tillsammans med PrepStain®-systemet används. Använda engångsmaterial skall kasseras i enlighet med institutionens och myndigheternas bestämmelser.
- Allt material är endast avsett för engångsbruk och får inte återanvändas.
- För att processa SurePath® LBC-test krävs en volym på 8,0 ± 0,5 ml av provet som samlats i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel).

Reagenser



För in vitro-diagnostik. Endast för användning i laboratorium.

Varningar



SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) innehåller en vattenbaserad lösning med denaturerad etanol. Blandningen innehåller små mängder av metanol och isopropanol. Får ej förtäras.



PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens) innehåller natriumazid. Får ej förtäras. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda högexplosiva metallazider. Vid bortskaffning spolar man med stora mängder vatten för att förhindra aziduppbbyggnad. Se publikationen DHHS (NIOSH) Nr. 78-127 Current 13, som utfärdats av Centers for Disease Control (centra för sjukdomskontroll) för ytterligare information. Se webbsidan: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



PrepStain® EA/OG-kombinationscytologisk färgning innehåller alkohol. Giftigt vid förtäring. Andas inte in ångorna. Används med adekvat ventilation. Undvik kontakt med hud och ögon. Mycket brandfarligt.

FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

- God laboratoriepraxis bör iaktas och alla procedurer för användning av PrepStain®-systemet skall följas noggrant.
- Reagenser skall förvaras i rumstemperatur (15 ° till 30 °C) och användas före sina utgångsdatum för att säkerställa korrekt prestanda. Förvaringsförhållanden för SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) utan cytologiska prover är upp till 36 månader från tillverkningsdatum i rumstemperatur (15 ° till 30 °C). Förvaringsförhållanden för SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) med cytologiska prover är 6 månader i kylskåp (2 ° till 10 °C) eller 4 veckor i rumstemperatur (15 ° till 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) som innehåller ett cytologiskt prov avsett för användning med DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ CT Qx och GC Qx kan förvaras och transporteras i upp till 30 dagar vid 2 °-30 °C innan de överförs till spådningsrör för prover för vätskebaserad cytologi (LBC), för DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ Qx.
- Undvik stänk och aerosolbildning. Använd lämpliga skyddshandskar, ögonskydd och skyddsrockar.
- SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelväska) har testats för antimikrobiell effektivitet mot: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* samt *Aspergillus niger*. SurePath®-konserverade prover, som ympats med 10⁶ CFU/ml av varje art, uppvixade ingen tillväxt efter 14 dagar (28 dagar för *Mycobacterium tuberculosis*) inkubation under standardförhållanden. Vidta ändå alltid allmänna försiktighetsbeaktanden för säker hantering av biologiska vätskor.
- Om rekommenderade procedurer i bruksanvisningen till PrepStain®-systemet inte följs kan prestandan påverkas negativt.

ALTERNATIVT ALIKVOTUTTAG

- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) innehåller tillräckligt stor volym för att medge att upp till 0,5 ml av en homogen blandning av celler och vätska tas ut för patientnära testning före SurePath® Pap-testet och tillräcklig volym ändå finns kvar för Pap-testet.
- Det finns inga bevis för att uttagande av en alikvot från SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) påverkar provets kvalitet för cytologitestning. I ovanliga fall kan dock felfördelning av relevant diagnostiskt material ske under denna process. Vårdpersonalen kan behöva ta ett nytt prov om resultaten inte korrelerar med patientens anamnes. Cytologi riktad dessutom in sig på andra kliniska frågor än testning för sexuellt överförbara sjukdomar (STD). Därför kanske det inte är lämpligt att ta ut en alikvot i alla kliniska situationer. Om det behövs kan ett separat prov tas för STD-testning, hellre än att ta ut en alikvot från SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel).
- En alikvot från prover med låg cellularitet kan ge en otillräcklig mängd material i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) för att kunna preparera ett tillfredsställande SurePath® Pap-test.
- Alikvoten måste tas ut innan SurePath® Pap-test utförs. Endast en alikvot kan tas ut från SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) innan Pap-testet utförs, oavsett alikvotens volym.

Procedur

- För att säkerställa att blandningen är homogen måste SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) vortexas i 10-20 sekunder. Alikvoten på 0,5 ml måste tas ut inom en minut efter vortexningen.
- Alikvoten måste tas ut med en pipettspets med polypropylenaerosolbarriär av lämplig storlek för den aktuella volymen. *Obs!* Serologipipetter ska inte användas. God laboratoriesed måste följas för att undvika att kontaminanter förs in i SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) eller i alikvoten. Alikvoten ska tas ut på en lämplig plats utanför områden där amplifiering utförs.
- Kontrollera alikvotmaterialet i pipetten visuellt med avseende på stora, grova partiklar och halvfäst material. Om sådant material hittas när alikvoten tas ut material ska allt material genast föras tillbaka till provtagningsflaskan igen och provet diskvalificeras från patientnära testning innan Pap-testet utförs.
- För anvisningar om processning av alikvoten med hjälp av DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ CT Q⁺ och GC Q⁺, se analysstillverkarens bipacksedel.

KLINISKA PRESTANDA: RAPPORT OM KLINISKA STUDIER

FÖRSTA STUDIEN MED DELAT PROV

TriPath Imaging genomförde en prospektiv, 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 cellutstryk. Syftet med studien var att bedöma SurePath®s prestanda jämfört med konventionella cellutstryk 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 cellutstryken, och därefter placerades kvarvarande prov på den borstliknande provtagningsanordningen i en SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel).

Efter transport till laboratoriet bearbetades varje konserverad cellsuspension enligt protokollet i PrepStain®-systemet. Resultaterande SurePath® objektglas och matchande konventionellt objektglas med cellutstryk screenades manuellt och diagnostiserades 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.

PATIENTEGENSKAPER

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 cellutstryk tidigare. Hela den studerade patientpopulationen bestod av följande rasgrupper: Vita (44 %), svarta (30 %), asiatiska (12 %), latinska (10 %), indianska (3 %) samt övriga (1 %).

Prover med felaktig dokumentation, patienter under 16 år, patienter med hysterektomier samt cytologiskt otillfredsställande och otillräckliga prover uteslöts. Man försökte få med så många fall av livmoderhalscancer och föregångssjukdomar till cancer som möjlighet genom att ta med högriskpatienter, sällan screenade och remitterade patienter.

Av totalt 10 335 fall accepterades 9 046 som 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 prövningen var att jämföra prestandan på SurePath® objektglas som producerats med PrepStain®-systemet med konventionellt preparerade cellutstryk. Objektglas av båda preparattyperna klassificerades enligt kriterierna i Bethesda-systemet. Studieprotokollet innebar fördelar för konventionella cellutstryk eftersom de konventionella cellutstryken 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 cellutstryk 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 objektglaspreparering av den oberoende referenspatologen. Detta resultat användes som "sann" diagnos och som referensvärde för jämförelsen mellan kliniskerna resultat med PrepStain®-systemets preparering av SurePath®-objektglas och konventionella cellutstryksprepareringar. Nollhypotesen om att känsligheten på de båda metoderna för preparering av objektglas var likvärdig, testades med McNemar chi-kvadrattest 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 skivepitelceller av icke fastställd signifikans/atypiska körtelceller av icke fastställd signifikans (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance, ASCUS/AGUS), lågradig intraepitelial lesion i skivepitel (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion, LSIL), högradig intraepitelial lesion i skivepitel (High-grade Squamous Intraepithelial Lesion, HSIL) samt cancer (CA).

TILLHANDAHÅLLET MATERIAL

Se bruksanvisningen till PrepStain®-systemet för fullständig information om reagenser, komponenter och tillbehör. Inte alla material som anges nedan krävs för manuell preparering av SurePath® objektglas (utan att använda PrepStain®-instrumentet).

Material som medföljer

- PrepStain®-instrument
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagningsvial med konserveringsmedel) (innehåller SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska))
- En eller flera cervikala provtagningsanordningar med löstagbara huvuden.
- PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens)
- PrepStain® Syringing Pipettes (sprutpipetter)
- PrepStain® Settling Chambers (stagnationskammare)
- Cytologisk färgningssats
- SurePath® PreCoat (förbeläggning) objektglas
- Centrifugrör
- Objektglas- och rörställ
- Överförings- och aspiratorspetsar för engångsbruk

Material som krävs men ej medföljer

- Vortexblandare
- Avjoniserat vatten (pH 7,5 till 8,5)
- Isopropanol och reagensalkohol
- Klargöringsmedel, monteringsmedel och täckglas

Förvaring

Förvaringsförhållandena för SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) utan cytologiska prover är upp till 36 månader från tillverkningsdatum i rumstemperatur (15° till 30° C).

Förvaringsförhållandena för SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) med cytologiska prover är 6 månader i kylskåp (2° till 10° C) eller 4 veckor i rumstemperatur (15° till 30° C).

SurePath® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) som innehåller ett cytologiskt prov avsett för användning med DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ CT Qx och GC Qx kan förvaras och transporteras i upp till 30 dagar vid 2 °–30 °C innan de överförs till spådningsrör för prover för vätskebaserad cytologi (LBC), för DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ Qx.

DIAGNOSTISK TOLKNING OCH PREPARATIONENS KORREKTHET

Efter användarutbildning som auktoriserats av TriPath Imaging på PrepStain®-systemet och SurePath® objektglas är de cytologiska diagnostiska kriterier enligt Bethesda-systemet som för närvarande används i cytologiska laboratorier för konventionella utstryk tillämpliga även för SurePath® objektglas.¹ Nya riktlinjer som rekommenderas i rapporteringssystemet i Bethesda 2001 handlar om vätskebaserade preparationer och definition av hur man skall fastställa adekvat cellulär specificitet för sådana preparationer.

I frånvaro av onormala celler anses ett preparat vara otillfredsställande om en eller flera av följande förutsättningar föreligger:

- (1) Otillräckligt antal diagnostiska celler (färre än 5 000 skivepitelceller per preparat). Följande procedurer rekommenderas för att uppskatta antalet välbevarade skivepitelceller på SurePath® objektglas:

- Undersök tillverkarens manual för varje mikroskopmodell som används vid screeningen eller kontakta tillverkaren för 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 skjutmåttsskala (fältarea = πr^2 där r är fältets radie).

Minsta genomsnittliga antal celler per 40x objektivfält skall fastställas genom att dividera den ungefärliga cellavlagringsarean på 130 mm² på SurePath® objektglas med fältarean för mikroskopet ifråga. Resultaterande antal delas sedan in i minimiantalet om 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 som rutinreferens 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. Det finns emellertid inget substitut för primär utvärdering i mikroskop av cytoteknikern under screeningprocessen.

- (2) 75 % eller fler av de cellulära komponenterna skymms av inflammation, blod, bakterier, slemhinna eller artefakter som utesluter cytologisk tolkning av objektglaset.

Alla onormala eller tveksamma observationer vid screeningen skall remitteras till en patolog för granskning och diagnos. Patologen skall notera eventuella diagnostiskt signifikanta cellulära morfologiska förändringar.

Tabell 1 Första studien med delat prov: 8 807 Matchade prover - Jämförelse av klinikerresultat - Ingen referenspatolog

Resultat efter klinik								
Kli-niknr.	Typ av objekt-glas	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 klinikerresultat för SurePath®-prepareringsmetoden jämfört med konventionella cellutstryksprepareringar för samtliga diagnostiska behandlingskategorier.

Tabell 2 Första studien med delat prov: 8 807 Matchade prover - Jämförelse av alla klinikers resultat - Ingen referenspatolog

Konventionellt preparerade cellutstryk								
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totalt
	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
	Totalt	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 med delat prov: Jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om ASCUS/AGUS - avvikande felanalys

Konventionellt preparerat objektglas				
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat		Fel	
	Lyckat	113	205	318
	Fel	180	229	409
		293	434	727

Lyckat = ASCUS/AGUS
Fel = WNL & reaktivt/reparerbart

Resultat av McNemar-test: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Fel med konventionell metod: 205
Fel med SurePath®: 180

I tabell 3 visas resultat för fall som av referenspatologen identifierat som ASCUS eller AGUS. Denna utvärdering gör det möjligt att analysera avvikande fel för att bedöma känsligheten på de båda metoderna i studieupplägget med delade prover. Fel inkluderar WNL och reaktivt/reparerbart. Eftersom det p-värde som fastställdes genom McNemar-testet översteg 0,05, var resultaten med SurePath® och konventionella cellutstryk likvärdiga.

Tabell 4 Första studien med delat prov: Jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om LSIL - avvikande felanalys

Konventionellt preparerat objektglas				
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat		Fel	
	Lyckat	140	63	203
	Fel	54	86	140
		194	149	343

Lyckat = LSIL
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart och 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, reaktivt/reparerbart 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 med delat prov: Jämförelse av alla klinikers resultat för fall som enligt referensmetoden betecknats om HSIL+ avvikande felanalys (LSIL är inte ett fel)

Konventionellt preparerat objektglas				
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat		Fel	
	Lyckat	160	28	188
	Fel	36	38	74
		196	66	262

Lyckat = 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, reaktivt/reparerbart samt ASCUS/AGUS. Känslighetsanalysen av avvikande fel visade att de båda metoderna i studieupplägget med delade prover var statistiskt likvärdiga.

Tabell 6 Första studien med delat prov: Avvikande felanalys av cancerfall (HSIL är inte ett fel, LSIL betraktas som ett fel)

Konventionellt preparerat objektglas				
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat		Fel	
	Lyckat	19	2	21
	Fel	5	1	6
		24	3	27

Lyckat = Cancer
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart ASCUS/AGUS och 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, reaktivt/reparerbart, ASCUS/AGUS och LSIL. Sensitivitetsanalysen av avvikande fel visade att de båda metoderna var statistiskt likvärdiga. Dessa 27 cancerfall ingick i studien med förnyad utvärdering. Dessa data presenteras i tabell 9.

Tabell 7 Första studien med delat prov: 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		
		Lyckat	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat	94	33	127
	Fel	67	68	135
		161	101	262

Lyckat = (HSIL+)
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart ASCUS/AGUS och 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, reaktivt/reparerbart, 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 cellstryk 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 prepareringens kvalitet eller subjektivitet vid tolkningen. För att bedöma de 262 fall som diagnostiserades som HSIL+ i den ursprungliga studien (tabell 7), utfördes ytterligare en utvärdering efter implementering av ett nytt utbildningsprogram för yrkesverksamma inom cytologi, som var avsett att betona konsekvent tolkning mellan de diagnostiska grupperna i Bethesda-systemet. Dessa HSIL+-fall ommaskerades som del av en förnyad utvärdering bestående av totalt 2 438 prover som preparerades med samma protokoll för delade prover. Studieklinikernas resultat för de båda prepareringarna 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 screenades båda objektglasprepareringarna från de avvikande fallen (PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas och konventionellt preparerade objektglas) på nytt av ytterligare en cytotekniker, och nyidentifierade abnormaliteter lades till dem från den ursprungliga screeningen. 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 diagnostiserades 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		
		Lyckat	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat	153	26	179
	Fel	24	6	30
		177	32	209

Lyckat = HSIL+
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart ASCUS/AGUS och 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, reaktivt/reparerbart, 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		
		Lyckat	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat	32	3	35
	Fel	3	0	3
		35	3	38

Lyckat = Cancer
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart ASCUS/AGUS och 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, reaktivt/reparerbart, ASCUS/AGUS och LSIL. Ett fel berodde på en LSIL-tolkning. Alla övriga fel berodde på tolkning av objektglasen som ASCUS/AGUS eller WNL. Sensitivitetsanalysen 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 cellstryk						
		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 diagnostiserades 77 som HSIL+ av referenspatologerna. I tabell 11 presenteras sensitivitetsanalysen 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)

		Konventionellt preparerat objektglas		
		Lyckat	Fel	
PrepStain®-preparerade SurePath® objektglas	Lyckat	25	21	46
	Fel	21	10	31
		46	31	77

Lyckat = HSIL+
Fel = WNL, reaktivt/reparerbart ASCUS/AGUS och 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, reaktivt/reparerbart, 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 med delat prov: 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
<i>Gardnerella</i>	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> -arter	6	0,1	2	<0,1
Bakterier (andra)	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 reparativa förändringar inbegrep reaktiva förändringar som var förknippade med inflammation, atrofisk vaginit, strålning och användning av IUD samt typiska reparationer såsom skivepitel-, metaplastiskt skivepitel- eller cylinderepitelceller.

Totalt 8 807 fall innehåller ingen ”otillfredsställande” bedömning av någon av provningsklinikerna eller referenskliniken. Ytterligare 239 bedömdes som ”otillfredsställande” av någon eller båda provningsklinikerna 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 uteslöts från diagnostisk jämförelse med kategorierna i Bethesda-systemet, men fördes tillbaka för jämförelse av hur adekvat prepareringen var.

I tabell 13 till 16 visas resultaten för hur adekvata prepareringarna var från samtliga kliniker.

Tabell 13 Första studien med delat prov: Resultat för hur adekvata prepareringarna var

Prepareringens lämplighet (antal patienter: 9 046)	PrepStain [®] -preparerade SurePath [®] objektglas		Konventionellt preparerat objektglas	
	N	%	N	%
Satisfactory (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 skivepitelceller	4	< 0,1	7	0,1
Cytolys	10	0,1	11	0,1
Ingen klinisk anamnes	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 skivepitelceller	6	0,1	0	0
Cytolys	0	0	1	< 0,1
Ingen klinisk anamnes	0	0	0	0
Ej specificerat	37	0,4	32	0,5

Obs! 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 med delat prov: 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
	SBLB	579	772	34
	UNSAT	21	24	9
		6 468	2 489	89

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 preparaten var för båda prepareringsmetoderna. Det var signifikant färre otillfredsställande och SBLB-fall med SurePath[®] objektglas jämfört med konventionella objektglas.

Tabell 15 Första studien med delat prov: Jämförelse av otillfredsställande resultat från de kliniska provningsklinikerna och referenskliniken

		Konventionellt preparerat objektglas	
		SAT	UNSAT
PrepStain [®] -preparerade SurePath [®] objektglas	SAT	8 807	151
	UNSAT	70	18
		8 877	169

Resultat av McNemar-test X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

I tabell 15 visas en jämförelse av tillfredsställande och otillfredsställande preparat från utvärderingarna på både provningsklinikerna och referenskliniken. SurePath[®] objektglasen visar en statistiskt signifikant reduktion av antalet otillfredsställande fall jämfört med konventionella objektglas.

Tabell 16 Resultat avseende hur adekvata preparaten 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 cellutstryk och SurePath[®]-metoden, vilket liknar tidigare studier med metoden delade prover.^{16,17}

SurePath[®] objektglas, som producerats av PrepStain[®]-systemet, gav resultat liknande konventionella cellutstryk 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 prospektiv, multicenter klinisk prövning för att utvärdera två modifikationer av den procedur FDA godkänd för preparation av SurePath[®] objektglas. Modifikationerna av den godkända processen för preparation av SurePath[®] objektglas var följande:

- Tilllägg av tillbehöret PrepMate[®] (PrepMate[®]-metoden), som automatiserar de initiala stegen i PrepStain[®]-laboratorieprocessen. PrepMate[®] blandar och avlägsnar automatiskt provet från SurePath[®] Preservative Vials (konserveringsvial) och lagrar provet i PrepStain[®] Density Reagent (densitetsreagens) i ett provrör.
- Tilllägg 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 applicerats 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 härnå efter för 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® Preservative Vials (konserveringsvial) och lagrar provet i PrepStain® Density Reagent (densitetsreagens) i ett provrör. Ett provrörställ 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 cellpellets 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 (förbeläggning) 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 studiesetet 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, dubbla patientnummer m. m.

DEMOGRAFISK INFORMATION OM POPULATIONEN

I tabell 18 anges demografiska uppgifter om patienternas ålder 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 förlösning	9
Efter klimakteriet	58
I klimakteriet	1
Nedsatt immunförsvär	0
Onormal gyn-presentation	0
Vaginala flytningar	137
Behandlas med östrogenersättning	19
IUD	2
Orala preventivmedel/implantat	20
Inget preventivmedel	181
Information ej tillgänglig	22

Tabell 20 Klinisk anamnes

Anamnes	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 tubarligatur
* Pelvic inflammatory disease (inflammatorisk sjukdom i bäckenet)

STUDIENS RESULTAT

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 stöder 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

Prepareringsmetod för objektglaset						
	Resultat med PrepStain®		PrepMate®		Manuell metod	
	Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI	Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI	Frekvens (n/N)	Exakt 95 % KI
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 de 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 preparatets 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 derivats 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										
	Otillfredsställande	WNL	BCC-RR	Atypi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totalt
Otillfredsställande	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
Atypi	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										
	Otillfredsställande	WNL	BCC-RR	Atypi	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totalt
Otillfredsställande	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
Atypi	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 lämplighetsresultaten vid jämförelse av den godkända PrepStain®-metoden med PrepMate®-metoden.

Tabell 24 Lämplighetsresultat för objektglas från PrepMate®- och PrepStain®-metoderna

Resultat med PrepStain®-metodens resultat			
Resultat med PrepMate®-metoden	SAT eller SBLB	UNSAT	
	398	3	
UNSAT	0	2	
	398	5	

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®-metodens resultat			
Resultat med den manuella metoden	SAT eller SBLB	UNSAT	
	398	2	
UNSAT	0	3	
	398	5	

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, multicenterstudie 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 cellutstryk 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 cellutstryk. 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 höggradiga intraepiteliala lesioner i skivepitel (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 cellutstrykssamling till SurePath®-provsamlingen. Proverna som togs 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 antal.

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
HSIL+

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

LSIL+

Klinik	Konventionellt			SurePath®		
	Totalt	LSIL+	Procent (%)	Totalt	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
Totalt	58 988	960	1,627	58 580	1975	3,371

ASCUS+

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

Otillfredsställande)

Klinik	Konventionellt			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

Obs! Variationer i prestandan mellan olika kliniker förväntas. Varje laboratorium 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 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

**Technical Support
USA**

Telephone: 1-877-822-7771
Fax: 1-336-290-8333
Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe
Telephone: +32 (0)53 720 673
Fax: +32 (0)53 720 678



VERKSAMHETENS NAMN OCH ADDRESS

TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215, USA



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Alla rättigheter förbehålles.

Система PrepStain® — листок-вкладыш

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

НАЗНАЧЕНИЕ

Система PrepStain® 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® 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}.

SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант) является средой для сбора и транспортировки гинекологических образцов, тестируемых в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ и *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺. Инструкции по использованию SurePath® Preservative Fluid (жидкого консерванта) для подготовки образцов, используемых в этих анализах, см. на листках-вкладышах в упаковках наборов для анализа.

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 клеток²⁻⁹. Процесс включает 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 обеспечивает лучшую видимость 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 щетки-шпателя (например Cytobrush® Plus GT или Pap Perfect® компании Medscand (USA) Inc., г. Трамбалл, штат Коннектикут, США). Собранные клетки не размазывают по предметному стеклу; вместо этого головку устройства снимают и помещают во флакон с SurePath® Preservative Fluid (жидким консервантом). Флакон закрывают крышкой, прикрепляют к ней этикетку и отправляют в сопровождении соответствующих документов в лабораторию для обработки. Головки устройств для забора проб не вынимают из флаконов с консервантом, содержащих взятый мазок.

В лаборатории законсервированный образец перемешивают путем встряхивания*, а затем переносят на PrepStain® Density Reagent (плотный реагент). Стадия обогащения, заключающаяся в осаждении препарата на центрифуге через плотный реагент, частично удаляет из препарата ненужные для диагностики примеси и избыточные клетки зоны воспаления. После центрифугирования осажденные клетки вновь суспендируют, перемешивают и переносят в PrepStain® Settling Chamber (осадочную камеру), установленную на SurePath® PreCoat Slide (предметное стекло PreCoat). Клетки осаждают под действием силы тяжести, а затем окрашивают по модифицированной процедуре Папаниколу. Предметное стекло освещают ксеноном или аналогичным реагентом, а затем покрывают покровным стеклом. Клетки, представленные в круге диаметром 13 мм, изучает под микроскопом квалифицированный цитотехнолог или патолог, имеющий доступ к другой важной информации о пациенте.

*Примечание. После этого этапа встряхивания в ходе теста с жидким консервантом SurePath® можно отобрать аликвоту объемом до 0,5 мл для дополнительного тестирования.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- Гинекологические мазки для препаратов, получаемых с помощью системы PrepStain®, должны забираться с помощью приспособления типа «метелка» или эндоцервикального комбинированного устройства типа щетки-шпателя со съёмной головкой (головками) в соответствии со стандартной процедурой взятия мазка, определенной производителем. С системой PrepStain® не следует использовать деревянные шпатели или несъемные пластмассовые эндоцервикальные щетки-шпатели.
- Персонал, занятый в получении препаратов SurePath® и диагностике на их основе, обязательно должен пройти обучение у авторизованных специалистов. Цитотехнологи и патологи проходят обучение оценке морфологии на препаратах SurePath®. Обучение включает 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. Используемые материалы должны быть надлежащим образом утилизированы в соответствии с инструкциями учреждения и действующим законодательством.

- Все материалы предназначены для одноразового использования и не должны быть использованы повторно.
- Для выполнения цитологического исследования SurePath® на жидкостной основе требуется 8,0 ± 0,5 мл образца, собранного в SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом).

Реагенты



Для диагностики in vitro. Только для лабораторного использования.

Предупреждения



SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант) содержит водный раствор денатурированного этилового спирта. Смесь содержит небольшое количество метилового и изопропилового спиртов. Не принимать внутрь.



PrepStain® Density Reagent (плотный реагент) содержит азид натрия. Не принимать внутрь. Азид натрия может реагировать с медными и свинцовыми трубами, образуя высоковзрывчатые азиды металлов. При 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 в глаза и на кожу. Огнеопасно.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Следует соблюдать указания по надлежащей лабораторной практике, 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 SurePath® Preservative Fluid (жидкого консерванта) без цитологических образцов при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) — до 36 месяцев со дня изготовления. Срок хранения SurePath® Preservative Fluid (жидкого консерванта) с цитологическими образцами — до 6 месяцев в холодильнике (от 2 до 10 °C) или 4 недели при комнатной температуре (от 15 до 30 °C). SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант), содержащий цитологический образец для использования в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ CT Q⁺ и GC Q⁺ может храниться и транспортироваться до 30 дней при температуре от 2 до 30 °C перед переносом в пробирку для разбавления образца с целью проведения цитологических исследований на жидкостной основе в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ Q⁺.
- Избегайте распыливания и распыления жидкостей. Технологи должны использовать соответствующие средства защиты рук и глаз, а также защитную одежду.
- SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант) был протестирован на эффективное действие против следующих микроорганизмов: *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 универсальные меры предосторожности по обращению с биологическими жидкостями.
- Нарушение рекомендованных процедур, описанных в руководстве по эксплуатации системы PrepStain®, может снизить качество результатов.

ОТБОР ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ АЛИКВОТЫ

- В SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе для забора мазка с жидким консервантом) доступен объем, достаточный для отбора до 0,5 мл однородной смеси клеток и жидкости для дополнительного тестирования перед выполнением теста SurePath® Pap (теста по Папаниколу). Оставшийся после отбора объем достаточен для теста по Папаниколу.
- Несмотря на отсутствие свидетельств о влиянии отбора аликвоты из SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакона для забора мазка с жидким консервантом) на качество образца для цитологического исследования, в редких случаях в ходе этого процесса возможно неравномерное распределение соответствующего диагностического материала. Если результаты исследования не соответствуют истории болезни пациента, медицинским работникам может потребоваться забор нового образца. Более того, цитологическое исследование решает клинические задачи, отличные от тестирования на заболевания, передающиеся половым путем (ЗППП), таким образом, отбор аликвоты может быть неприемлемым для некоторых клинических ситуаций. При необходимости можно отобрать отдельный образец для тестирования на ЗППП вместо отбора аликвоты из SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакона для забора мазка с жидким консервантом).

- При отборе аликвоты из образцов с низкой насыщенностью клетками в SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом) может остаться объем материала, недостаточный для выполнения теста SurePath® Pap (тест по Папаниколу).
- Аликвоту следует отбирать перед выполнением теста SurePath® Pap (теста по Папаниколу). Допускается отбор только одной аликвоты из SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакона для забора мазка с жидким консервантом) до выполнения теста по Папаниколу, независимо от объема аликвоты.

Методика

1. Для обеспечения однородности смеси необходимо встряхивать SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом) в течение 10 – 20 с. Затем в течение одной минуты следует отобрать аликвоту 0,5 мл.
2. Наконечник пипетки для отбора аликвоты должен иметь аэрозольный барьер, а объем пипетки должен соответствовать объему отбираемой аликвоты.
Примечание. Не следует использовать серологические пипетки. Во избежание попадания загрязнений в SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом) или в аликвоту необходимо соблюдать требования надлежащей лабораторной практики. Отбор аликвоты должен выполняться в соответствующем месте за пределами помещения, в котором выполняется амплификация.
3. Визуально проверьте материал аликвоты в пипетке на наличие крупных твердых или полутвердых частиц. При обнаружении таких примесей в ходе забора аликвоты следует немедленно вернуть всю отобранную жидкость во флакон с образцом и отбраковать образец для дополнительного тестирования перед тестом по Папаниколу.
4. Инструкции по обработке аликвоты в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ CT Q⁺ и GC Q⁺ см. на листках-вкладышах в упаковках наборов для анализа, предоставленных их производителями.

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 прибора SurePath®) могут понадобиться не все перечисленные ниже материалы.

Предоставляемые материалы

- Прибор PrepStain®
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом) (содержит SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант))
- Устройства со съёмными головками для взятия цервикального мазка
- PrepStain® Density Reagent (плотный реагент)
- PrepStain® Syringing Pipettes (шприц-пипетки)
- PrepStain® Settling Chambers (осадочные камеры)
- Комплект для цитологического окрашивания
- SurePath® PreCoat Slides (предметные стекла PreCoat)
- Центрифужные пробирки
- Штативы для предметных стекол и пробирок
- Одноразовые наконечники для переноса и аспиратора

Необходимые, но не предоставленные 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 SurePath® Preservative Fluid (жидкого консерванта) без цитологических образцов при комнатной температуре (от 15 до 30 °C) — до 36 месяцев со дня изготовления.

Срок хранения SurePath® Preservative Fluid (жидкого консерванта) с цитологическими образцами — до 6 месяцев в холодильнике (от 2 до 10 °C) или 4 недели при комнатной температуре (от 15 до 30 °C).

SurePath® Preservative Fluid (жидкий консервант), содержащий цитологический образец для использования в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ CT Q⁺ и GC Q⁺ может храниться и транспортироваться до 30 дней при температуре от 2 до 30 °C перед переносом в пробирки для разбавления образца с целью проведения цитологических исследований на жидкостной основе в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ Q⁺.

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ И ПРАВИЛЬНОСТЬ ПРИГОТОВЛЕНИЯ

После обучения использованию системы PrepStain® и предметных стекол SurePath®, авторизованного компанией TriPath Imaging, к микропрепаратам SurePath® можно применять критерии цитологической классификации Бетесда, в настоящее время применяемые в цитологических лабораториях для традиционных мазков по Папаниколу¹. 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 5000 клеток плоского эпителия на препарат). Для приблизительного подсчета хорошо сохранившихся клеток плоского эпителия на предметных стеклах 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 используемыми 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 5000 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.
 - Вдоль центрального диаметра препарата по вертикальной или горизонтальной оси должно уместиться как минимум 10 полей.
 - На практике для оценки насыщенности клетками 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 патологические или сомнительные явления, обнаруженные при скрининговом исследовании, 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 SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флакон для забора мазка с жидким консервантом).

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 патолог.

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 8807 пациенток, участвовавших в испытании, 1059 имели в анамнезе аномальные 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 9046 были приняты для исследования, и их мазки изучались в 8 различных лабораториях. Из этих 9046 случаев 8807 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 Папаниколау. Микропрепараты обоих типов препаратов классифицировались по системе Бетесда. Протокол исследований был необъективен в пользу традиционного мазка по Папаниколау, 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 во флакон, и все собранные клетки должны быть направлены на получение образца по системе PrepStain®.

Для сравнения чувствительности микропрепаратов SurePath® и традиционных микропрепаратов по Папаниколау, просматриваемых вручную, уровень аномальности препарата определялся сторонним патологом и сравнивался с диагнозами, сделанными в лабораториях, где проводилось испытание. Эталонный диагноз делался независимым сторонним патологом на основании наиболее аномального 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 Папаниколау, 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 несовпадающие 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: 8807 парных образцов — сравнение результатов, полученных в лабораториях, без стороннего патолога

Результаты по лабораториям								
Лаб. №	Тип микропрепарата	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 Папаниколау, приготовленных традиционным способом, для всех диагностических категорий.

Таблица 2. Первое комбинированное исследование: 8807 парных образцов
Сравнение результатов, полученных в лабораториях, без стороннего патолога

		Мазок по Папаниколау, приготовленный традиционным методом						
		ВПН	АПНЗ	АЖ-КНЗ	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, реактивные/репаративные состояния

Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Количество ошибок для традиционного метода: 205
Количество ошибок для метода SurePath®: 180

В таблице 3 показаны результаты для случаев, которые сторонний патолог 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 результатов всех 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 — В-ПИП
Ошибка — ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ, Н-ПИП

Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
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 результатов всех 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: $\chi^2_{mc} = 1,00, p = 0,3173$
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 и Н-ПИП

Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 1,645, p = 0,1980$
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 см. в таблице 9.

Таблица 7. Первое комбинированное исследование: сравнение результатов всех 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 и Н-ПИП

Результат теста Макнемара: $\chi^2_{mc} = 11,56, p = 0,0007$
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. Несмотря на несоответствие исходному протоколу исследования,¹⁰ было проведено статистическое сравнение, где диагноз Н-ПИП считался ошибкой диагностики в случае, диагностированном как В-ПИП+ 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 2438 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 патолога 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. Повторная оценка: 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+
Ошибки — ВПН, реактивное/репаративное состояние, АПНЗ/АЖКНЗ и 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. Повторная оценка: 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	32	3	35
	Ошибка	3	0	3
		35	3	38

Успех — рак
Ошибки — ВПН, реактивные/репаративные состояния, АПНЗ/АЖКНЗ и 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 и 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 2097 новых случаев, использованных, чтобы замаскировать полученные ранее препараты В-ПИП+. Анализ и сравнение препаратов новых случаев приводятся в таблице 10.

Таблица 10. Повторная оценка: 2097 случаев — 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	1561	128	0	47	30	0	1766
	АПНЗ	80	37	1	6	8	1	133
	АЖКНЗ	9	7	0	0	1	0	17
	Н-ПИП	33	11	1	33	11	1	90
	В-ПИП	26	18	1	18	19	3	85
	СА	1	2	0	0	1	2	6
	Всего	1710	203	3	104	70	7	2097

Из 2097 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. Повторная оценка: сравнение результатов всех 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	25	21	46
	Ошибка	21	10	31
		46	31	77

Успех — В-ПИП+
Ошибка — ВПН, реактивное/репаративное состояние, АПНЗ/АЖКНЗ и 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, представленный 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 12. Первое комбинированное исследование: сводка доброкачественных клеточных изменений

Описание диагноза (кол-во пациентов: 8807)	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 8807 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 13. Первое комбинированное исследование: результаты оценки достоверности препаратов

Качество препаратов (кол-во пациентов: 9046)	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 попали 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), Неуд. — неудовлетворительное.

Таблица 14. Первое комбинированное исследование: сводка достоверности препаратов по всем клиническим лабораториям, где велись испытания

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом			
		У	УУ	Неуд.	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	У	5868	1693	46	7607
	УУ	579	772	34	1385
	Неуд.	21	24	9	54
		6468	2489	89	9046

Неуд.: 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 15. Первое комбинированное исследование: сравнение количества неудовлетворительных оценок в лабораториях, где проводилось испытание, и у сторонних экспертов

		Микропрепарат, приготовленный традиционным способом		
		У	Неуд.	
Микропрепарат SurePath®, приготовленный по системе PrepStain®	У	8807	151	8958
	Неуд.	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 16. Результаты 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 SurePath® Preservative Vials (флаконов для забора мазка) с PrepStain® Density Reagent (жидким консервантом) 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 SurePath® Preservative Vials (флаконов для забора мазка с жидким консервантом) и наносит образец слоем на PrepStain® Density Reagent (плотный реагент) в пробирке. Штатив для образцов, предварительно заполненный флаконами с пробами, шприц-пипетками и пробирками для теста (содержащими плотный реагент) помещаются на лоток устройства. Штатив может содержать до 12 флаконов с пробами, пробирок для теста и шприц-пипеток, размещенных в 3 ряда по 4 в каждом. Флаконы 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 производится 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, помещенную на SurePath® PreCoat Slide (предметное стекло PreCoat). После оседания образца на предметном стекле группа образцов окрашивается одновременно по Папаниколу.

УЧИТЫВАЕМОСТЬ МИКРОПРЕПАРАТА

В таблице 17 показана учитываемость микропрепаратов для клинических испытаний. Важно отметить, что набор испытания состоял из **трех препаратов на каждую пациентку**.

Таблица 17. Возможность учета микропрепаратов

	Кол-во случаев оцененных	
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	1209

* Отсутствующие образцы, повторяющиеся номера пациенток и т. п.

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОВОКУПНОСТИ ПАЦИЕНТОК

В таблице 18 приводится демографическая информация для всех пациенток, включенных в исследуемую популяцию.

Таблица 18. Демографические данные пациенток

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 20. Клиническая история

История	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, 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 21. Сравнение долей и доверительных интервалов (ДИ) для критериев качества

Метод изготовления микропрепарата							
		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 %
Критерий качества	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. Кроме того, 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®									
		Неуд.	ВПН	Добро- кач. Клеточ- ные измен. — реактив- норепа- р-тивные	Ати- пия	Н- ПИП	В- ПИП	Дисп- лазия	Адено- карци- нома in situ	CA	Всего
Диагноз, полученный методом PrepMate®	Неуд.	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	ВПН	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	Доброкач. клеточные измен. — реактив- норепа- р-тивные	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
	Аденокар- цинома in situ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	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. Кроме того, взвешенная каппа-статистика показывает, что согласованность существенно больше значения, которое можно было бы объяснить случайностью. Следовательно, качество диагностики у двух испытуемых методов и в утвержденном методе одинаково.

Таблица 23. Сводная таблица диагнозов, полученных методом PrepStain® и ручным методом

		Диагноз, полученный методом PrepStain®									
		Неуд.	ВПН	Добро- кач. Клеточ- ные измен. — реактив- норепа- р-тивные	Ати- пия	Н- ПИП	В- ПИП	Дисп- лазия	Адено- карци- нома in situ	CA	Всего
Диагноз, полученный ручным методом	Неуд.	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	ВПН	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	Доброкач. клеточные измен. — реактив- норепа- р-тив-ные	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
	Аденокар- цинома in situ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	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 Макнемара¹⁸.

В таблице 24 показаны результаты по достоверности препаратов, изготовленных утвержденным методом PrepStain® по сравнению с методом PrepMate®.

Таблица 24. Достоверность препаратов, полученных методами PrepMate® и PrepStain®

		PrepStain®		
		Результат метода		
Результат для метода PrepMate®	У или УУ	У или УУ	Неуд.	401
	Неуд.	398	3	
		0	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 ручным методом и методом и PrepStain®

PrepStain®					
Результат метода					
Результат для ручного метода	У или УУ	У или УУ	Неуд.	400	
	У или УУ	398	2		
	Неуд.	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 ВО ФЛАКОН

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 во флакон (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 Папаниколау, 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 во флакон, с мазками по Папаниколау, полученными традиционным способом. Результаты, полученные с помощью микропрепаратов SurePath®, сравнивались с результатами исторической когорты мазков по Папаниколау, 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 Папаниколау 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).

Таблица 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	7293	13	0,178	7169	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	7293	99	1,357	7169	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	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
Всего	58 988	2062	3,496	58 580	3586	6,122

Неудовлетворительно

Лаборатория	Традиционный			SurePath®		
	Всего	Неуд.+	%	Всего	Неуд.+	%
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
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®».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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, Akgids 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

Technical Support
USA
Telephone: 1-877-822-7771
Fax: 1-336-290-8333
Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe
Telephone: +32 (0)53 720 673
Fax: +32 (0)53 720 678



НАЗВАНИЕ И АДРЕС КОМПАНИИ
TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA

EC REP

Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ireland



©TriPath Imaging, Inc., 2011. Все права защищены.

BD, логотип BD и BD ProbeTec являются товарными знаками компании
Becton, Dickinson and Company. © BD, 2011

Ulotka produktu systemu PrepStain®

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

PRZEZNACZENIE

System PrepStain® służy do przygotowywania płynnych cienkowarstwowych preparatów komórek. System PrepStain® wytwarza szkiełka podstawowe SurePath®, które zastępują konwencjonalne rozmary ginekologiczne. Szkiełka podstawowe SurePath® 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 rozpoznania cytologicznych w obrębie szyjki macicy lub pochwy.^{1,19}

SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) to podłoże odpowiednie do pobierania i przenoszenia próbek ginekologicznych badanych za pomocą BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ oraz *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ wykorzystujących amplifikację DNA. Należy zapoznać się z ulotkami dotyczącymi przygotowania próbek do ww. oznaczeń z zastosowaniem SurePath® Preservative Fluid (płynu konserwującego).

STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

System PrepStain® przekształca płynne zawiesiny komórek szyjki macicy do indywidualnie barwionych, jednorodnych cienkowarstwowych preparatów zachowujących diagnostyczne gniazda komórek.²⁻⁹ Proces obejmuje konserwację komórek, randomizację, wzbogacanie materiału diagnostycznego, pipetowanie, sedimentację, barwienie oraz nakładanie szkiełka nakrywkowego w celu stworzenia szkiełka podstawowego SurePath® do stosowania w rutynowych cytologicznych badaniach przesiewowych oraz kategoryzacji określonej przez system Bethesda.¹ Szkiełko podstawowe SurePath® reprezentuje dobrze zachowaną populację wybarwionych komórek w krążku o średnicy 13 mm. W większości wyeliminowane są artefakty wywołane suszeniem na powietrzu, zmatowienie, nakładanie się materiału komórkowego oraz zanieczyszczenia. Znacząco zmniejszona jest liczba 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 miotelki (np. Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss — Holandia) lub przyrządów będących połączeniem wewnątrzsztykowej szczoteczki/plastikowej szpatułki (np. Cytobrush® Plus GT i szpatułka Pap-Perfect®, MedScand (USA), Inc., Trumbull, CT) z odłączanymi główkami. Zamiast rozmazywania pobranych komórek na szkiełku podstawowym, od przyrządów odłączane są główki, które umieszcza się w fiolce z SurePath® Preservative Fluid (płynem konserwującym). Fiolka jest zamknięta, 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 PrepStain® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia). Podczas etapu wzbogacania obejmującego sedimentację 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 SurePath® PreCoat (szkiełku podstawowym). Komórki ulegają sedimentacji grawitacyjnej, następnie są barwione przy użyciu zmodyfikowanej procedury barwiącej Papanicolaou. Szkiełko podstawowe jest następnie przemywane ksylenem lub jego odpowiednikiem i przykrywane szkiełkiem podstawowym. 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.

*Uwaga: W celu przeprowadzenia badań dodatkowych, po etapie mieszania na wytrząsarce podczas procesu testu SurePath® LBC można pobrać porcję o objętości do 0,5 mL.

OGRANICZENIA

- Próbki ginekologiczne przeznaczone do przygotowywania przy użyciu systemu PrepStain® należy pobierać za pomocą przyrządu do pobierania typu miotelki lub wewnątrzsztykowej 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 użytku 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.
- Przeprowadzenie testu SurePath® LBC wymaga próbki o objętości $8,0 \pm 0,5$ mL pobranej do SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym).

Odczynnik



Do stosowania w diagnostyce in vitro. Wyłącznie do użytku laboratoryjnego.

Ostrzeżenia



SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) zawiera wodny roztwór denaturowanego etanolu. Mieszanina zawiera niewielkie ilości metanolu oraz izopropanolu. Nie spożywać.



PrepStain® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia) zawiera azcydek sodu. Nie spożywać. Azcydek sodu może reagować z ołowiem lub miedzią zawartymi w instalacjach wodociągowych, tworząc bardzo wybuchowe azydki metali. Podczas utylizacji mieszaninę należy splukać dużą ilością wody, aby zapobiec osadzeniu się azydku. Dodatkowe informacje znajdują się w publikacji DHHS (NIOSH, Nr 78-127 Current 13) wydawanej przez Centers for Disease Control. Patrz strona internetowa: 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 zasad 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 SurePath® Preservative Fluid (płynu konserwującego) bez próbek cytologicznych w temperaturze pokojowej (od 15° do 30°C) to 36 miesięcy od daty produkcji. Maksymalny czas przechowywania SurePath® Preservative Fluid (płynu konserwującego) z próbkami cytologicznymi w chłodni (od 2° do 10°C) wynosi 6 miesięcy, natomiast w temperaturze pokojowej (od 15° do 30°C) 4 tygodnie. SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) zawierający próbki cytologiczne przeznaczone do użycia z wykorzystującymi amplifikację DNA oznaczeniami BD ProbeTec™ CT Q⁺ i GC Q⁺ można przechowywać i transportować w temperaturze 2° – 30°C przez okres do 30 dni przed przeniesieniem do probówek do rozcieńczania próbek cytologii płynnej (ang. Liquid-Based Cytology, LBC) dla wykorzystujących amplifikację DNA oznaczeń BD ProbeTec™ Q⁺.
- Unikać chłapania oraz wytwarzania aerozoli. Operatorzy powinni stosować odpowiednie środki ochrony rąk, oczu oraz odzież ochronną.
- SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) ma działanie bakteriobójcze i został przetestowany wobec: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* oraz *Aspergillus niger*. Próbki 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 powszechnie środki ostrożności dotyczące bezpiecznej pracy z płynami biologicznymi.
- Nieprzestrzeganie procedur wyszczególnionych w podręczniku operatora systemu PrepStain® może spowodować pogorszenie wydajności.

OPCJONALNE POBRANIE PORCJI ROZTWORU

- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolka z płynem konserwującym) zapewnia wystarczającą objętość, aby można było pobrać z niej do 0,5 mL jednorodnej mieszaniny komórek i płynu w celu przeprowadzenia dodatkowych badań przed testem SurePath® Pap przy zachowaniu objętości wystarczającej do wykonania testu Pap.
- Chociaż brak dowodów na to, że pobranie porcji roztworu z SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym) wpływa na jakość próbki do badań cytologicznych, rzadkie przypadki nieprawidłowego podziału materiału diagnostycznego mogą wystąpić podczas tego procesu. Jeżeli wyniki badania nie zgadzają się z historią kliniczną pacjenta, wówczas może wystąpić konieczność pobrania nowej próbki do badań przez pracowników opieki zdrowotnej. Ponadto badanie cytologiczne odpowiada na inne pytania kliniczne niż te dotyczące chorób przenoszonych drogą płciową. Dlatego pobranie porcji roztworu może nie być odpowiednie we wszystkich sytuacjach klinicznych. W razie potrzeby przeprowadzenia badań pod kątem chorób przenoszonych drogą płciową, można pobrać oddzielną próbkę zamiast pobierania porcji roztworu z SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym).
- Pobieranie porcji próbek roztworu o niskiej komórkowości może doprowadzić do nieodpowiedniego przygotowania testu SurePath® Pap z powodu niewystarczającej ilości materiału w SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolce z płynem konserwującym).
- Porcję należy pobrać przed wykonaniem testu SurePath® Pap. Przed wykonaniem testu Pap można pobrać tylko jedną porcję preparatu z SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym), niezależnie od jej objętości.

Procedura

1. W celu uzyskania jednorodnej mieszaniny, SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolkę z płynem konserwującym) należy wytrząsać przez 10 – 20 sekund, a porcję o objętości 0,5 mL należy pobrać w przeciągu 1 minuty od wytrząsania.
2. Do pobierania próbki należy użyć polipropylenowej końcówki pipety z barierą dla aerozolu o objętości odpowiedniej do pobieranej objętości. **Uwaga:** Nie należy stosować pipet serologicznych. Aby uniknąć zanieczyszczenia SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym) lub pobranej porcji roztworu, należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Pobieranie porcji roztworu powinno odbywać się w odpowiednim miejscu poza obszarem wykonywania amplifikacji.

3. Należy wizualnie skontrolować pobraną porcję roztworu w pipiecie pod kątem obecności dużych cząstek lub elementów półstałych. Obecność wyżej wymienionych cząstek oznacza natychmiastowe przeniesienie pobranej porcji roztworu do fiolki z próbką i jej dyskwalifikację do badań dodatkowych przed wykonaniem testu Pap.
4. Instrukcje dotyczące przetwarzania pobranej porcji roztworu za pomocą BD ProbeTec™ CT Q⁺ i GC Q⁺ wykorzystujących amplifikację DNA znajdują się w ulotkach dołączonych do pakietu przez producenta.

MATERIAŁY WYMAGANE

Wyczerpujące informacje na temat odczynników, elementów i wyposażenia dodatkowego znajdują się w podręczniku operatora systemu PrepStain®. Nie wszystkie spośród wymienionych poniżej materiałów są wymagane do przygotowywania preparatów szkiełek podstawowych PrepStain® metodą manualną (bez użycia aparatu PrepStain®).

Dostarczane materiały

- Aparat PrepStain®
- SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (zawiera płyn konserwujący SurePath®)
- Przyrząd(y) z odłączaną główką do pobierania próbek z szyjki macicy
- PrepStain® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia)
- PrepStain® Syringing Pipettes (pipety strzykawkowe)
- Komory osadzące PrepStain®
- Zestaw do barwienia cytologicznego
- SurePath® PreCoat (szkiełka podstawowe)
- 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 SurePath® Preservative Fluid (płynu konserwującego) bez próbek cytologicznych w temperaturze pokojowej (od 15° do 30°C) to 36 miesięcy od daty produkcji.

SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) 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.

SurePath® Preservative Fluid (płyn konserwujący) zawierający próbki cytologiczne przeznaczone do użycia z wykorzystującymi amplifikację DNA oznaczeniami BD ProbeTec™ CT Q⁺ i GC Q⁺ można przechowywać i transportować w temperaturze 2° – 30°C przez okres do 30 dni przed przeniesieniem do probówek do rozcieńczania próbek cytologii płynnej (ang. Liquid-Based Cytology, LBC) dla wykorzystujących amplifikację DNA oznaczeń BD ProbeTec™ Q⁺.

INTERPRETACJA DIAGNOSTYCZNA ORAZ WIARYGODNOŚĆ 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 niezadowalający, gdy spełnione jest jedno z następujących kryteriów:

- (1) Nieodpowiednia liczba komórek diagnostycznych (poniżej 5000 złuszczonych komórek nabłonka na preparat). Poniżej opisano zalecane procedury szacowania na szkiełkach podstawowych SurePath® liczby dobrze zachowanych złuszczonych 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 PRÓBKII

Firma TriPath Imaging przeprowadziła wielośrodkowe, 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 mioteli umieszczano w SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (fiolce z płynem konserwującym).

Po przetransportowaniu do laboratorium każda zakonserwowana zawiesina 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 uzyskać diagnostyczną „prawdę”.

CHARAKTERYSTYKA PACJENTEK

Wiek kobiet uczestniczących w badaniu zawierał się w granicach od 16 do 87 lat, w tym 772 kobiet było 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%), indyjska (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 10 335 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 rozmazami przygotowywanymi konwencjonalnie. Szkiełka podstawowe obu rodzajów preparatów klasyfikowano według kryteriów systemu Bethesda. Protokół badania był ukierunkowany na korzyść konwencjonalnego rozmazu Pap, ponieważ był on zawsze przygotowywany jako pierwszy, wskutek czego ograniczał szkiełka SurePath® do resztkowego materiału pozostającego na przyrządzie typu mioteli (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 ośrodków stosujących 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 złuszczone 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 próbek: 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 próbek: 8807 dopasowanych próbek
Porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach — bez patologa referencyjnego

Konwencjonalne rozmazy								
Szkielka 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 próbek: Porównanie wyników wszystkich ośrodków dla przypadków oznaczonych metodą referencyjną jako ASCUS/AGUS — analiza błędów niezgodności

Szkielka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną				
Szkielka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	Błąd		
	113	205	318	
Sukces	180	229	409	
	293	434	727	

Sukces = ASCUS/AGUS
Błąd = WNL oraz odpowiedź zapalna/naprawcza

Wynik testu McNemara: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
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 zapalny/naprawczy. Ponieważ wartość p określona testem McNemara przekroczyła 0,05, wyniki SurePath® oraz konwencjonalnych rozmazów były równoważne.

Tabela 4 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbek: Porównanie wyników wszystkich ośrodków dla przypadków oznaczonych metodą referencyjną jako LSIL — analiza błędów niezgodności

Szkielka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną				
Szkielka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	Błąd		
	140	63	203	
Błąd	54	86	140	
	194	149	343	

Sukces = LSIL
Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza 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 zapalny/naprawczy 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 próbek: Porównanie wyników wszystkich ośrodków uzyskanych w przypadkach oznaczonych metodą referencyjną jako HSIL+. Analiza błędów niezgodności (LSIL nie jest błędem)

Szkielka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną				
Szkielka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	Błąd		
	160	28	188	
Błąd	36	38	74	
	196	66	262	

Sukces = HSIL+
Błąd = WNL, wynik zapalny/naprawczy 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 zapalny/naprawczy oraz ASCUS/AGUS. Analiza czułości błędów niezgodności wykazała statystyczną równoważność obu metod w badaniu z dzieleniem próbki.

Tabela 6 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbek: Analiza niezgodności dla przypadków raka (HSIL nie jest błędem; LSIL jest uważany za błąd)

Szkielka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną				
Szkielka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	Błąd		
	19	2	21	
Błąd	5	1	6	
	24	3	27	

Sukces = Rak
Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza, 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 zapalny/naprawczy, 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 próbek: Porównanie wyników uzyskanych we wszystkich ośrodkach dla przypadków 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	127
	Błąd	67	68	135
		161	101	262

Sukces = (HSIL+)

Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza, 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 zapalny/naprawczy, ASCUS/AGUS oraz LSIL. Mimo braku spójności z protokołem pierwotnego badania,¹⁰ 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 próbek 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 próbek. Następnie wyniki badań ośrodka 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 zamaskowanego. Taka surowsza metoda referencyjna zmniejszyła liczbę referencyjnych przypadków HSIL+ z 262 w badaniu pierwotnym do 209 w badaniu powtórnym. 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 za niezadowalającą, 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	179
	Błąd	24	6	30
		177	32	209

Sukces = HSIL+

Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza, 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 zapalny/naprawczy, 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	35
	Błąd	3	0	3
		35	3	38

Sukces = Rak

Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza, ASCUS/AGUS i 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 zapalny/naprawczy, 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	Ogółem
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	WNL	1561	128	0	47	30	1766
	ASCUS	80	37	1	6	8	133
	AGUS	9	7	0	0	1	17
	LSIL	33	11	1	33	11	90
	HSIL	26	18	1	18	19	85
	CA	1	2	0	0	1	6
Ogółem		1710	203	3	104	70	2097

Spośród 2097 nowych wymienionych powyżej przypadków 77 zostało zdiagnozowanych przez patologa referencyjnego jako HSIL+. Tabela 11 przedstawia analizę czułości 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).

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną		
		Sukces	Błąd	
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	Sukces	25	21	46
	Błąd	21	10	31
		46	31	77

Sukces = HSIL+

Błąd = WNL, odpowiedź zapalna/naprawcza, 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 pominieć HSIL+ w obu metodach przygotowawczych. Błędy obejmują WNL, wynik zapalny/naprawczy, ASCUS/AGUS oraz LSIL. Test statystyczny wykazał równoważność obu metod w badaniu dzielenia próbek, 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)	Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
	N	%	N	%
Łagodne zmiany komórkowe				
*Zakażenie:				
Szczepy <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
Szczepy <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Bakterie (pozostałe)	52	0,6	191	2,2
**Zmiany zapalne/naprawcze	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.

** Zapalne zmiany naprawcze związane z zapaleniem, zanikowym zapaleniem pochwy, naświetlaniem, stosowaniem IUD (wkładki wewnątrzmaciczne), jak również typowa naprawa obejmująca nabłonek płaski, metaplastę nabłonka płaskiego lub komórki nabłonka walcowatego.

Ogółem 8807 przypadków nie zostało ocenionych jako „niezadawalające” zarówno przez ośrodki badania, jak i ośrodek referencyjny. Dodatkowo 239 próbek zostało w przypadku jednego lub obu preparatów ocenionych jako „niezadawalające” przez ośrodki badania lub ośrodek referencyjny bądź przez oba. Spośród 239 przypadków niezadawalających 151 zaobserwowano wyłącznie na konwencjonalnych szkiełkach podstawowych, 70 wyłącznie na szkiełkach podstawowych SurePath® a 18 w przypadku obu rodzajów preparatów. Wszystkie przypadki niezadawalające 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)	Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną	
	N	%	N	%
Zadawalające	7607	84,1	6468	71,5
Zadawalające, ale ograniczone przez:	1385	15,3	2489	27,5
Brak elementu wewnątrzszajkowego	1283	14,2	1,118	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 złączonych 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
Niezadawalające do oceny:	54	0,6	89	1,0
Brak elementu wewnątrzszajkowego	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 złączonych 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 obejmowała więcej niż jedna podkategoria.

Dodatkowe przypadki niezadawalające zostały stwierdzone przez patologa referencyjnego i całkowita liczba wyników niezadawalających została przedstawiona w tabeli 15: SAT = zadawalające, SBLB = zadawalające, ale ograniczone przez (pewne określone warunki) oraz UNSAT = niezadawalające.

Tabela 14 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Podsumowanie wyników wiarygodności preparatów we wszystkich uczestniczących ośrodkach

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	SAT	5868	1693	46	7607
	SBLB	579	772	34	1385
	UNSAT	21	24	9	54
		6468	2489	89	9046

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 obiema metodami. W przypadku szkiełek podstawowych SurePath® było znacząco mniej przypadków niezadawalających oraz SBLB w porównaniu z metodą konwencjonalną.

Tabela 15 Pierwsze badanie metodą dzielenia próbki: Porównanie wyników niezadawalających uzyskanych w ośrodkach uczestniczących w badaniu oraz ośrodka referencyjnym

		Szkiełka podstawowe przygotowane metodą konwencjonalną		
		SAT	UNSAT	
Szkiełka podstawowe SurePath® przygotowane metodą PrepStain®	SAT	8807	151	8958
	UNSAT	70	18	88
		8877	169	9046

Wynik testu McNemara X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

Tabela 15 przedstawia porównanie wyników zadawalających i niezadawalających uzyskanych w ośrodkach uczestniczących w badaniu oraz ośrodka referencyjnym. W przypadku szkiełek podstawowych SurePath® było znacząco mniej przypadków niezadawalających w porównaniu z metodą konwencjonalną.

Tabela 16 Wyniki wiarygodności preparatu w zależności od ośrodka — współczynnik SBLB dla braku elementu wewnątrzszajkowego (Endocervical Component — ECC)

Ośrodek	Liczba przypadków	Szkiełka podstawowe SurePath® SBLB bez ECC N (%)	Konwencjonalne SBLB bez ECC 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)
Wszystkie ośrodki	9046	1283 (14,2)	1118 (12,4)

Wykrywanie komórek wewnątrzszajkowych (Tabela 16) było zróżnicowane w różnych ośrodkach badania. Ogółem pomiędzy rozmazami tradycyjnymi a metodą SurePath® występowała 1,8% różnica wykrywania komórek wewnątrzszajkowych, 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 niezadawalających 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 wielośrodkowe 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 wyposażenia dodatkowego PrepMate® (metoda PrepMate®), które automatyzuje początkowe etapy manualnej obróbki laboratoryjnej PrepStain®. PrepMate® automatycznie miesza i przenosi próbkę z SurePath® Preservative Vials (fiolek konserwujących) i nanosi do próbówki zawierającej PrepStain® Density Reagent (odczynniki do wirowania w gradiencie stężenia).
- Dodanie metody manualnej, w której tworzenie zawiesiny komórek, nanoszenie warstw na szkiełko i barwienie szkiełka podstawowego wykonuje ręcznie laborant, a nie aparat PrepStain®.

Badanie, 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 SurePath® Preservative Vials (fiolek konserwujących) i nanosi do próbówki zawierającej PrepStain® Density Reagent (odczynniki do wirowania w gradiencie stężenia). Statyw próbek z umieszczonymi na nim fiolkami 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 aparat 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 osadzącej zamontowanej na SurePath® PreCoat (szkiełku podstawowym). Po osadzeniu próbki na szkiełku podstawowym następuje barwienie metodą Papanicolaou.

DANE SZKIEŁEK 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, zdublowane numery pacjentek itp.

DANE DEMOGRAFICZNE PACJENTEK

Tabela 18 przedstawia dane dotyczące wieku wszystkich osób włączonych do badania populacji.

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 wybór więcej niż jednego punktu i całkowita liczba przypadków może nie zgadzać się z liczbą kobiet w badaniu populacji.

Tabela 19 Aktualne informacje kliniczne

Informacja kliniczna	Liczba przypadków
Cykl regularny	241
Cykl nieregularny	69
Histerektomia	16
Ciąża	9
Po aborcji	0
Po urodzeniu dziecka	9
Po menopauzie	58
W trakcie menopauzy	1
Obniżona odporność	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
Kolposkopia	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 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 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 z odpowiednim 95% przedziałem ufności (confidence interval — CI).

Tabela 21 Porównanie współczynników oraz przedziałów ufności (Confidence Intervals — CI) dla kryteriów akceptowalności

Metoda przygotowywania szkiełek podstawowych							
		PrepStain®		PrepMate®		Metoda manualna	
		Współczy nnik (n/N)	Ścisły 95% CI	Współczy nnik (n/N)	Ścisły 95% CI	Współczy nnik (n/N)	Ścisły 95% CI
Kryteria akceptowalności	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
	Klarowność	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
	Komórkowość	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 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 rozpoznaniach na głównej 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 kappi, 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 kappi 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+11+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 kappi wskazuje, że zgodność jest o wiele wyższa, niż wynikałoby to z przypadku.

Tabela 22 Tablica korelacyjna diagnoz metodami PrepStain® i PrepMate®

Diagnoza metodą PrepStain®										
Diagnoza metodą PrepMate®	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Ogółem
	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). Stosunek szkiełek na głównej przekątnej wynosi 0,8759 (353/403). Ścisłe granice 95% przedziału ufności dwumianowej wynoszą od 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 od 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 kappi 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®										
Rozpoznanie metodą manualną	Unsat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Ogółem
	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 SZKIEŁKA 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	
			401
	UNSAT		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	
			400
	UNSAT		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 fiolek. 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 próbki zaniżają rzeczywistą skuteczność testu przygotowywanego z resztkowego materiału komórkowego.¹²

Niniejsze badanie porównywało skuteczność szkiełek podstawowych SurePath® wykonanych 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), adenogruzołaka 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®. Próbkę 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 przejściem klinik na szkiełka podstawowe SurePath®, a następnie cofano się w czasie do uzyskania z każdej kliniki zbliżonej liczby próbek przygotowanych w sposób konwencjonalny do liczby 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	40 735	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: Możliwe są różnice w wydajności 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

- 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

Technical Support

USA
Telephone: 1-877-822-7771
Fax: 1-336-290-8333
Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe
Telephone: +32 (0)53 720 673
Fax: +32 (0)53 720 678



NAZWA ORAZ SIEDZIBA
TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215, USA



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

„PrepStain“ sistemos produkto informacinis lapelis

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

NAUDOJIMO PASKIRTIS

„PrepStain“ sistema – tai skysčių plonasluoksnių ląstelių paruošimo procesas. „PrepStain“ sistema pagamina „SurePath“ slides“ (skaidres), kurių naudojimo paskirtis – pakeisti įprastus ginekologinius PAP tepinėlius. „SurePath slides“ (skaidrės) yra skirtos naudoti atliekant patikrą ir nustatant gimdos kaklelio vėžį, ikivėžinius pakitimus, atipines ląsteles ir visas kitas citologines grupes, kaip nurodo „Bethesda“ sistema atliekant gimdos kaklelio / makšties citologinę diagnostiką.^{1,19}

„SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) yra tinkama ginekologinių mėginių, tiriamų „BD ProbeTec™“ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ ir *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimams, ėmimo ir gabenimo terpė. Nurodymus, kaip naudoti „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) ruošiant mėginius įvairiems tyrimams, rasite tyrimo pakuotės informaciniuose lapeliuose.

PROCEDŪROS SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

„PrepStain“ sistema skystą gimdos kaklelio ląstelių mėginio suspensiją paverčia į pavienius nudažytus, homogeninius plonus ląstelių sluoksnius, išlaikydama diagnostines ląstelių sankaupas.²⁻⁹ Šis procesas apima ląstelių konservavimą, atsitiktinį ėmimą, diagnostinės medžiagos sodrinimą, lašinimą pipete, nusėdimą, dažymą ir uždengimą dengiamuoju stikleliu, siekiant paruošti „SurePath slide“ (skaidrę), naudojamą atliekant įprastinę citologijos atranką ir klasifikavimą, kaip nurodo „Bethesda“ sistema.¹ „SurePath slide“ (skaidrėje) pateikiama gerai išsaugota nudažytų ląstelių populiacija, esanti 13 mm skersmens apskritime. Pašalinama didžioji dalis oro sausinimo artefaktų, neryškumų, persidengiančių ląstelių medžiagų ir nuosėdų. Gerokai sumažinamas leukocitų kiekis ir tai leidžia lengviau vizualizuoti epitelio ląsteles, diagnostikai susijusias ląsteles ir infekcinius organizmus.

„SurePath“ procesas pradedamas kvalifikuotam medicinos darbuotojui naudojant šepetėlio tipo mėginių ėmimo įrankį (pvz., „Cervex Brush“[®], „Rovers Medical Devices B.V.“, Oss, Nyderlandų Karalystė) arba jungtinį endocervikalinį šepetėlį / plastikinę mentelę (pvz., „Cytobrush“[®] Plus GT[™] ir „Pap Perfect“[®] mentelę, „Medscand (USA) Inc.“, Trumbull, CT) su nuimama (-omis) galvute (-ėmis), skirta (-omis) ginekologiniams mėginiui paimti. Mėginių ėmimo įrankiu paimtos ląstelės netepamos ant stiklelio. Mėginių ėmimo įrankio galvutės nuimamos nuo rankenos ir įdedamos į „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skysčio buteliuką). Buteliukas uždaromas dangteliu, pažymimas etikete ir siunčiamas su atitinkamais dokumentais apdoroti į laboratoriją. Mėginių ėmimo įrankio galvutės nėra išimamos iš konservavimo buteliukų, kuriuose yra paimti mėginiai.

Laboratorijoje konservuotas mėginys maišomas sukamaisiais judesiais* ir perkeliamas į „PrepStain Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentą). Taikant sodrinimą, kurį sudaro centrifuguojant atliekamas nusėdintas naudojant tankio reguliavimo reagentą, iš mėginio iš dalies pašalinamos nedidinės liekanos ir uždegiminiai ląstelių pertekliai. Po centrifugavimo granuliuotos ląstelės iš naujo sustabdomos, maišomos ir perkeliamos ant „PrepStain Settling Chamber“ (nusėdinimo kameroje) įtaisytos „SurePath PreCoat slide“ (skaidrės). Ląstelės nusėdinamos veikiant sunkio jėgai ir dažomos atliekant modifikuotą Papanicolaou dažymo procedūrą. Skaidrė nuvaloma kšilenu ar jo pakaitu ir uždengiama dengiamuoju stikleliu. Ląstelės, esančias 13 mm skersmens apskritime, mikroskopu tiria specialiai apmokytas citopatologijos technologas ir patologas, atsižvelgdami į kitą susijusią pacientų informaciją.

* Pastaba: papildomam tyrimui galima paimti iki 0,5 mL mėginio po sukimo „SurePath“.

APRIBOJIMAI

- Ginekologiniai mėginiai, kurie skirti ruošiniams paruošti naudojant „PrepStain“ sistemą, turi būti paimami naudojant šepetėlio tipo mėginių ėmimo įrankį arba jungtinį endocervikalinį šepetėlį / plastikinę mentelės įrankį su nuimama (-omis) galvute (-ėmis), laikantis standartinės gamintojo pateikiamos mėginių ėmimo procedūros. Medinės mentelės su „PrepStain“ sistema neturėtų būti naudojamos. Nenuimami jungtiniai endocervikalinio šepetėlio / plastikinės mentelės įrankiai su „PrepStain“ sistema neturėtų būti naudojami.
- Būtina „SurePath slides“ (skaidrių) gaminimo ir vertinimo sąlyga yra įgaliotųjų asmenų organizuojami mokymai. Citopatologijos technologai ir patalogai bus apmokyti atlikti „SurePath slides“ (skaidrių) morfologijos įvertinimą. Mokymų metu bus tikrinami įgūdžiai. Laboratorijos klientai galės naudoti mokomąją skaidrę ir tyrimų rinkinius. „TriPath Imaging, Inc.“ taip pat padės ruošti mokomąsias skaidres iš kliento pacientų populiacijų.
- Tinkamas „PrepStain“ sistemos veikimas užtikrinamas naudojant tik „TriPath Imaging“ palaikomus arba rekomenduojamus priedus. Naudoti priedai turi būti tinkamai šalinami, laikantis įstaigos ir vyriausybės nustatytų reikalavimų.
- Visi priedai yra vienkartinio naudojimo ir jų negalima naudoti pakartotinai.
- „SurePath“ LBC tyrimui apdoroti reikia 8,0 ± 0,5 mL mėginio, paimto iš „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuko).

Reagentai



Naudoti in vitro diagnostikai. Naudoti tik laboratorijoje.

Įspėjimai



„SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystyje) yra vandeninio denatūruoto etanolio tirpalo. Mišinys yra nedideli metanolio ir izopropilo alkoholio kiekiai. Nenuryti.



„PrepStain Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentas) yra natrio azido. Nenuryti. Natrio azidas gali reaguoti su švino ir vario dariniais ir sudaryti itin sprogus metalų azidus. Pašalindami nuplaukite dideliu kiekiu vandens, kad nesusikauptų azido. Norėdami gauti daugiau informacijos, žr. Ligų kontrolės ir prevencijos centrų išleistą leidinį: DHHS (NIOSH) Nr. 78 – 127, dabartinis 13. Žr. svetainėje: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



„PrepStain“ EA/OG kombinuotuose citologiniuose dažuose yra spirito. Toksiška nurijus. Neįkvėpti garų. Užtikrinti tinkamą vėdinimą. Vengti kontakto su oda ir akimis. Labai degi.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Naudojant „PrepStain“ sistemą privaloma laikytis geros laboratorinės praktikos ir griežtai laikytis visų procedūrų.
- Reagentai turėtų būti laikomi kambario temperatūroje (15 – 30 °C), norint, kad veiktu tinkamai, negali būti naudojami pasibaigus galiojimo laikui. „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) be citologinių mėginių galima laikyti kambario temperatūroje (15 – 30 °C) iki 36 mėnesių nuo pagaminimo datos. „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) su citologiniais mėginiais galima laikyti atšaldytus (2 – 10 °C) iki 6 mėnesių, o kambario temperatūroje (15 – 30 °C) – iki 4 savaitių. „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) su citologiniais mėginiais, skirtą naudoti su „BD ProbeTec™“ CT Q⁺ ir GC Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimams, galima laikyti ir pervežti iki 30 dienų esant 2 – 30 °C temperatūrai prieš perkeltiant į skysčio pagrindo citologinių mėginių (LBC) skiedimo mėgintuvėlius „BD ProbeTec™“ Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimams.
- Venkite taškymosi ar aerosolių susidarymo. Operatoriai privalo naudoti tinkamą rankų, akių ir drabužių apsaugą.
- „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skysčio) antimikrobinį medžiagų efektyvumas buvo patikrintas tiriant: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* bei *Aspergillus niger* ir nustatyta, kad jis yra veiksmingas. Ištyrus „SurePath“ konservavimo mėginius, inokuluotus su kiekvienos atmainos 10⁶ CFU/mL, po 14 inkubavimo standartinėmis sąlygomis dienų (*Mycobacterium tuberculosis* – po 28 dienų) nebuvo pastebėtas joks augimas. Tačiau visada reikėtų laikytis universalių saugaus darbo su biologiniais skysčiais atsargumo priemonių.
- Jei nebus laikomasi „PrepStain“ sistemos operatoriaus vadove nurodytų rekomenduojamų procedūrų, veikimas gali pablogėti.

PASIRENKAMO BANDINIO PAĖMIMAS

- „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuke) yra pakankamas kiekis mėginio, kad būtų galima paimti iki 0,5 mL homogeniško ląstelių ir skysčio mišinio papildomam tyrimui, prieš „SurePath“ PAP tyrimą, paliekant užtekintai mėginio PAP tyrimui.
- Nors nėra įrodymų, kad bandinio ėmimas iš „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuko) paveikia mėginio citologinio tyrimo kokybę, šio proceso metu retkarčiais gali pasitaikyti atitinkamos diagnostinės medžiagos paskirstymo klaidų. Sveikatos priežiūros specialistams gali prireikti paimti naują mėginį, jeigu rezultatai neatitiks paciento sveikatos istorijos. Be to, citologiniai tyrimai skirti ir kitoms klinikinėms problemoms, ne tik lytinių kelių plintančioms ligoms diagnozuoti, todėl bandinio ėmimas gali būti netinkamas visoms klinikinėms situacijoms. Jeigu reikia, lytinių kelių plintančioms ligoms tirti gali būti paimtas atskiras mėginys, o ne bandinys iš „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuko).
- Paėmus bandinį iš mažai ląstelių turinčių mėginių, gali likti nepakankamai medžiagos „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuke) tinkamam „SurePath“ PAP tyrimui paruošti.
- Bandinį reikia paimti prieš apdorojant „SurePath“ PAP tyrimą. Prieš PAP tyrimą galima iš „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuko) paimti tik vieną bandinį, nepaisant bandinio kiekio.

Procedūra

- Siekiant užtikrinti homogenišką mišinį, „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliukas) turi būti sukamas 10 – 20 sekundžių ir 0,5 mL bandinį reikia paimti per vieną sukimo minutę.
- Imant bandinį reikia naudoti polipropileno aerosolius sulaikančius mikrodozatorius, kurių dydis atitiktų imamą kiekį. *Pastaba:* serologinių pipetių naudoti negalima. Reikia laikytis geros laboratorinės praktikos, kad į „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skysčio) mėginių ėmimo buteliuką arba bandinį nepatektų teršalų. Bandinį reikia imti tinkamoje vietoje, ne tame plote, kur atliekama amplifikacija.
- Vizualiai patikrinkite bandinio medžiagą pipetėje, ar nėra didelių dalelių arba pasiausių kietųjų dalelių. Radus šių medžiagų imant bandinį, visą medžiagą reikia grąžinti į mėginių buteliuką ir nenaudoti mėginio papildomam tyrimui prieš atliekant PAP tyrimą.
- Nurodymus apie bandinio apdorojimą naudojant „BD ProbeTec™“ CT Q⁺ ir GC Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimus rasite tyrimo gamintojo pakuotės informaciniame lapelyje.

BŪTINOS MEDŽIAGOS

Išsamios informacijos apie reagentus, komponentus ir priedus rasite „PrepStain“ sistemos operatoriaus vadove. „SurePath slides“ (skaidrės) ruošti rankiniu būdu (kai nenaudojamas „PrepStain“ instrumentas) nėra būtinos visos toliau vardinamos medžiagos.

Tiekiamos medžiagos

- „PrepStain“ instrumentas
- „SurePath Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliukas) (įskaitant „SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystį)
- Gimdos kaklelio mėginio ėmimo įrankis (-iai) su nuimama (-omis) galvute (-ėmis)
- „PrepStain Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentas)
- „PrepStain Syringing Pipettes“ (švirkštimo pipetės)
- „PrepStain Settling Chambers“ (nusėdimo kameros)
- Citologinis dažymo rinkinys
- „SurePath PreCoat slides“ (skaidrės)
- Centrifugavimo mėgintuvėliai
- Skaidrių ir mėgintuvėlių stoveliai
- Vienkartiniai perkėlimo ir aspiratoriaus antgaliai

Būtinos, bet netiekiamos medžiagos:

- Sukamasis maišytuvas
- Dejonizuotas vanduo (pH 7,5 – 8,5)
- Izopropilo ir analiziškai grynas alkoholis
- Valymo medžiaga, tvirtinimo terpė ir dengiamieji stikleliai

Laikymas

„SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) be citologinių mėginių galima laikyti kambario temperatūroje (15 – 30 °C) iki 36 mėnesių nuo pagaminimo datos.

„SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) su citologiniais mėginiais galima laikyti atšaldytus (2 – 10 °C) iki 6 mėnesių, o kambario temperatūroje (15 – 30 °C) – iki 4 savaičių.

„SurePath Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) su citologiniais mėginiais, skirtą naudoti su „BD ProbeTec“ CT Q⁺ ir GC Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimams, galima laikyti ir pervežti iki 30 dienų esant 2 – 30 °C temperatūrai prieš perkeltiant į skysčio pagrindo citologinių mėginių (LBC) skiedimo mėgintuvėlius „BD ProbeTec“ Q⁺ amplifikuotų DNR tyrimams.

DIAGNOSTIKOS PAAIŠKINIMAS IR PARUOŠIMO ATITIKIMAS

Po „TriPath Imaging“ įgaliotojo naudotojo mokymų, kaip naudoti „PrepStain“ sistemą ir „SurePath slides“ (skaidrės), „SurePath slides“ (skaidrės) galios „Bethesda“ sistemos citologijos diagnostikos kriterijai, kurie šiuo metu taikomi citologijos laboratorijose įprastiems PAP tepinėliams.¹ „Bethesda“ 2001 m. diagnostikos sistemoje rekomenduojami nauji nurodymai nagrinėja skysčių ruošinius ir nurodo, kaip nustatyti būtent šiems ruošiniams tinkamas ląsteles.

Jei neįprastų ląstelių nėra, ruošinys yra laikomas netinkamu, jei egzistuoja viena ar daugiau toliau išvardytų sąlygų:

- (5) Nepakankamas diagnostinių ląstelių skaičius (mažiau nei 5 000 daugiasluoksnio plokščiojo epitelio (squamous epithelial) ląstelių viename ruošinyje). Toliau pateikiamos rekomenduojamos gerai išsaugotų daugiasluoksnio plokščiojo epitelio (squamous epithelial) ląstelių skaičiaus „SurePath slides“ (skaidrėse) vertinimo procedūros:

- Išnagrinėkite kiekvieno patikrai naudojamo mikroskopo modelio gamintojo vadovą arba susisiekite su mikroskopo gamintoju ir nustatykite regėjimo lauko plotą, kada naudojamas norimas okuliaras ir 40x objektyvas. Arba apskaičiuokite lauko plotą naudodami hemocitometrą ar panašią mikroskopinę skaidrės matavimo skalę (lauko plotas = πr^2 , kur r yra lauko spindulys). Minimalus vidutinis ląstelių skaičius vieno 40x objektyvo plote turėtų būti nustatomas dalijant „SurePath slide“ (skaidrės) 130 mm² apytikrų ląstelių nusodinimo plotą iš konkretaus naudojamo mikroskopo lauko ploto. Tada gautas skaičius padalijamas į mažiausiai 5 000 ląstelių. Gautas rezultatas yra rekomenduojamas minimalus vidutinis atitikimo skaičius daugiasluoksnio plokščiojo epitelio (squamous epithelial) ląstelėms 40x objektyvo regėjimo lauke. Užsirašykite šį skaičių, o citopatologijos technologas turės juo visada remtis. „Bethesda“ 2001 m. nurodymai, nurodantys apytikslį ląstelių skaičių 13 mm ruošinio lauke.
- Per ruošinio skersmenį horizontaliai arba vertikaliai turėtų būti apskaičiuojama mažiausiai dešimt laukų.
- Tikrinant ruošinio gaminimo proceso (eigos) tinkamumą, galėtų būti atliekamas vizualus nudažyto ruošinio tankumo vertinimas kaip praktiškas ląstelių įvertinimo įrankis. Tačiau patikros proceso metu citopatologijos technologo atliekamo pagrindinio mikroskopinio įvertinimo pakaito nėra.

- (6) 75 % ar daugiau ląstelių komponentų yra neaiškūs dėl uždegimo, kraujo, bakterijų, gleivių ar artefaktų, o tai kliudo atlikti citologinį skaidrės vertinimą.

Visus neįprastus ar abejotinus patikros pastebėjimus reikėtų perduoti patologui peržiūrėti ir įvertinti. Patologas turėtų pasižymėti visus diagnostiškai svarbius ląstelines morfologinius pakitimus.

VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS: KLINIKINIŲ TYRIMŲ ATASKAITA

PIRMASIS PADALYTŲ MĖGINIŲ TYRIMAS

Siekiant palyginti „PrepStain“ sistema pagamintų „SurePath slides“ (skaidrių) ir įprastai ruošiamų PAP tepinėlių diagnostikos rezultatus, „TriPath Imaging“ įvairiose vietose atliko žvalgomąjį, slaptą, paskirstytų mėgintuvėlių, suderintų porų klinikinį tyrimą. Tyrimo tikslas – lyginant su įprastu PAP tepinėliu įvertinti „SurePath“ veikimą nustatant gimdos kaklelio vėžį, ikivėžinius pakitimus ir atipines ląsteles įvairiose pacientų populiacijose ir skirtingoje laboratorijos aplinkoje. Taip pat buvo nagrinėtas abiejų ruošinių atitikimas.

Remiantis FDA „Svarbių punktų“ dokumento, skirto gimdos kaklelio vėžio citologijos įrankiams¹⁰, rekomendacijomis, iš pradžių buvo ruošiami visi įprasti PAP tepinėliai, o tada ant šepetėlio tipo įrankio likęs mėginys surenkamas į „SurePath preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuką).

Atvežus į laboratoriją visa išsaugota ląstelių suspensija buvo apdorojama pagal „PrepStain“ sistemos protokolą. Gauta „SurePath slide“ (skaidrė) ir atitinkama įprasto PAP tepinėlio skaidrė buvo tikrinamos rankiniu būdu ir diagnozuojamos atskirai, pagal „Bethesda“ sistemą taikant diagnostikos kategorijas. Kiekvienoje vietoje patologas vertino visus neįprastas skaidres.

Pagal Shatzkin aprašytą metodą¹¹, šiame tyrime paskirtoje referentinėje vietoje dalyvavo nepriklausomas referentinis patologas, kuris iš visų vietų slaptu būdu peržiūrėjo visus neįprastus arba prieštaringus atvejus, atkūrimo atvejus ir 5 % įprastų atvejų ir pateikė kiekvieno atvejo „tikrąją“ diagnozę.

PACIENTŲ CHARAKTERISTIKOS

Tyrime dalyvavusių moterų amžius siekė 16 – 87 m., iš jų – 772 pomenopauzinio amžiaus moterys. Iš 8 807 tyrime dalyvavusių pacienčių, 1 059 jau anksčiau buvo nustatyti neįprasti PAP tepinėlių rezultatai. Visą tyrinėtą pacienčių populiaciją sudarė toliau išvardytų rasių grupės: kaukazietės (44 %), juodaodės (30 %), azijietės (12 %), ispanės (10 %), indėnės (3 %) ir kt. (1 %).

Iš tyrimo buvo pašalintos neteisingai dokumentus užpildžiusios, jaunesnės nei 16 metų moterys, pacientės, kurioms buvo pašalinta gimda ir nustatyti citologinių atžvilgiu netinkami ir nepakankami mėginiai. Atrenkant didelės rizikos, retai patikrą atliekančias ir kitas pacientes, buvo siekiama įtraukti kiek įmanoma daugiau gimdos kaklelio vėžio ir nevēžinių ligų atvejų.

Iš 10 335 visų atvejų buvo priimti ir aštuoniose skirtingose tyrimo vietose įvertinti 9 046 atvejai. Iš šių 9 046 atvejų, 8 807 atitiko „Bethesda“ ruošinio atitikimo reikalavimus ir buvo tinkami naudoti visai abiejų ruošinių diagnozei.

TYRIMO REZULTATAI

Klinikinio tyrimo tikslas buvo patikrinti „PrepStain“ sistema pagamintų „SurePath slides“ (skaidrių) ir įprastai paruoštų PAP tepinėlių veikimą. Abiem paruošimų tipams skaidrės buvo klasifikuojamos pagal „Bethesda“ sistemos kriterijus. Tyrimo sąlygos buvo šališkos įprasto PAP tepinėlio atžvilgiu, nes iš pradžių visada buvo ruošiami įprasti PAP tepinėliai, taigi „SurePath slide“ (skaidrei) tekdavo tik ant šepetėlio tipo įrankio likusi medžiaga (t. y. ta mėginio dalis, kuri paprastai išmetama).¹² Numatyta „SurePath“ tyrimo paskirtis yra tiesioginis surinkimas į buteliuką, kur visos surinktos ląstelės bus prieinamos „PrepStain“ sistemai.

Siekiant palyginti „SurePath“ ir įprasto PAP tepinėlio skaidrių jautrumą, kai šios nuskaitomos rankiniu būdu, referentinis patologas nustatė atvejų neįprastumo lygį ir patikrino tyrimo vietose atliktas diagnozes. Rekomenduojamą diagnozę referentinis patologas nustatė pagal bet kurios skaidrės ruošinio labiausiai neįprastą diagnozę. Šis rezultatas buvo naudojamas kaip „teisinga“ diagnozė arba referentinė reikšmė, norint palyginti vietų rezultatus naudojant „PrepStain“ sistemos „SurePath slides“ (skaidrių) ruošinį ir įprasto PAP tepinėlio ruošinį. Nebūdinga hipotezė, kad dviejų skaidrių ruošinių metodų jautrumas yra vienodas, buvo patikrinti naudojant McNemar chi kvadrato suderintoms poroms skirtą tyrimą.¹³ Šiuo statistikos tyrimu buvo lyginami dviejų ruošimo metodų skirtingi rezultatai.

1 lentelėje pateikiamas tiesioginis visų vietų „SurePath slides“ (skaidrių) ir įprastų skaidrių palyginimas šioms diagnostinio gydymo grupėms: neviršija normalių ribų, atipinės nenustatytos reikšmės plokščiojo epitelio ląstelės / atipinės nenustatytos reikšmės liaukinės ląstelės (ASCUS / AGUS), nežymūs plokščialąsteliniai intraepiteliniai pakitimai (LSIL), žymūs plokščialąsteliniai intraepiteliniai pakitimai (HSIL) ir vėžio žymuo (CA).

1 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. 8 807 poriniai mėginiai – vietų rezultatų palyginimas – be referentinio patologo

		Rezultatai pagal vietą						
Vietos nr.	Skaidrių tipas	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Iš viso
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
Iš viso	SP	7 759	509	36	342	135	26	8 807
	CN	7 768	531	39	271	177	21	8 807

SP = „SurePath slides“ (skaidrės)
CN = įprastai paruoštos skaidrės

2 lentelėje pateikiamas tiesioginis visų vietų „SurePath“ ruošinio metodo ir įprasto PAP tepinėlio ruošinio rezultatų palyginimas visoms diagnostinio gydymo grupėms.

2 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. 8 807 poriniai mėginiai – visų vietų rezultatų palyginimas – be referentinio patologo

		Įprastai paruoštas PAP tepinėlis						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Iš viso
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	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
Iš viso		7,768	531	39	271	177	21	8,807

1 ir 2 lentelėse nepriklausomo referentinio patologo rezultatai neatsispindi.

3 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Visų vietų rezultatų, kada atvejai pagal referentinį metodą buvo priskirti ASCUS / AGUS grupei, palyginimas – prieštarų klaidų analizė

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	113	205	318
	Klaida	180	229	409
		293	434	727

Sėkmingai = ASCUS / AGUS
Klaida = WNL ir reaktyvūs / reparaciniai

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 205
„SurePath“ skaidrės: 180

3 lentelėje pateikiami atvejų, kuriuos referentinis patologas priskyrė kaip ASCUS arba AGUS, rezultatai. Šis prieštarų klaidų įvertinimas leidžia analizuoti padalytų mėginių tyrimo dizaino metodų jautrumą. Klaidos apima WNL ir reaktyvius / reparacinius atvejus. McNemar tyrimu nustatyta p reikšmė viršijo 0,05, todėl „SurePath“ ir įprasto PAP tepinėlio rezultatai buvo vienodi.

4 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Visų vietų rezultatų, kada mėginiai pagal standartinį metodą buvo priskirti LSIL grupei, palyginimas – prieštarų klaidų analizė

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	140	63	203
	Klaida	54	86	140
		194	149	343

Sėkmingai = LSIL
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai ir ASCUS / AGUS

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 63
„SurePath“ skaidrės: 54

4 lentelėje pateikiami atvejų, kuriuos referentinis patologas priskyrė kaip LSIL, rezultatai. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius ir ASCUS / AGUS atvejus. ASCUS / AGUS atvejų dviejų padalytų mėginių tyrimo metodų jautrumas buvo statistiškai lygus p reikšmei, viršijančiai 0,05.

5 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Visų vietų rezultatų, kada mėginiai pagal standartinį metodą buvo priskirti HSIL+ grupei, palyginimas – prieštarų klaidų analizė (LSIL nėra klaida)

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	160	28	188
	Klaida	36	38	74
		196	66	262

Sėkmingai = HSIL+
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai ir ASCUS / AGUS

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 28
„SurePath“ skaidrės: 36

5 lentelėje pateikiami atvejų, kuriuos referentinis patologas priskyrė kaip HSIL+, rezultatai. Šiame palyginime LSIL nebuvo vertinamas kaip klaida, greičiau kaip neatitikimas.^{10,14,15} Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius ir ASCUS / AGUS atvejus. Ši prieštarų klaidų jautrumo analizė parodė padalytų mėginių tyrimo metodų statistinį atitikimą.

6 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Vėžio atvejų prieštarų klaidų analizė (HSIL nėra klaida; LSIL laikomas klaida).

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	19	2	21
	Klaida	5	1	6
		24	3	27

Sėkmingai = vėžio žymuo
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai, ASCUS / AGUS ir LSIL

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 2
„SurePath“ skaidrės: 5

6 lentelėje pateikiami visų atvejų (iš visų vietų), kurie pagal standartinį metodą vertinami kaip vėžys, rezultatai. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius, ASCUS / AGUS ir LSIL atvejus. Prieštarų klaidų jautrumo analizė parodė padalytų mėginių tyrimo metodų statistinį atitikimą. Šie 27 vėžio atvejai buvo įtraukti į pakartotinio vertinimo tyrimą. Šiuos duomenis galite rasti 9 lentelėje.

7 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Visų vietų rezultatų, kai atvejai pagal standartinį metodą buvo priskirti HSIL+ prieštarų klaidų analizei, palyginimas (LSIL šioje analizėje buvo laikoma klaida).

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	94	33	127
	Klaida	67	68	135
		161	101	262

Sėkmingai = (HSIL+)
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai, ASCUS / AGUS ir LSIL

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 33
„SurePath“ skaidrės: 67

7 lentelėje pateikiami atvejų, kuriuos referentinis patologas priskyrė HSIL+, rezultatai. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius, ASCUS / AGUS ir LSIL atvejus. Nors ir nesilaikant pradinių tyrimo sąlygų¹⁰, statistinis metodų palyginimas buvo atliktas tada, kai LSIL laikytas diagnostine klaida ir kai atvejį vienas nepriklausomas referentinis patologas priskyrė prie HSIL+. Šiame statistiniame diagnostinio jautrumo palyginime, kai LSIL yra laikomas klaida, o ne nežymiu neatitikimu, „PrepStain“ sistemos paruoštos „SurePath slides“ (skaidrės) nebūtų lygiavertės įprastai paruoštam PAP tepinėliui HSIL+ neįprastumo nustatymui atlikti atliekant padalytų mėginių tyrimą.

HSIL+ ATVEJŲ PASLĖPTAS PAKARTOTINIS ĮVERTINIMAS

Siekiant nustatyti, ar rezultatus paveikė ruošinių kokybė, ar vertinimo subjektyvumas, buvo atliktas naujas įvertinimas. 262 atvejams, kurie pradiniu tyrimo etapu (7 lentelė) buvo diagnozuoti kaip HSIL+, įvertinti po naujos citologijos specialistų mokymų programos, skirtos „Bethesda“ sistemos diagnostinių grupių vertinimo nuoseklumui pabrėžti, buvo atlikta papildoma analizė. Šie HSIL+ atvejai pakartotiniam vertinimui buvo vėl paslėpti ir įtraukti į analizę kaip 2 438 mėginių, paruoštų naudojant tą patį padalytų mėginių protokolą, dalis. Tada tyrimo vietų rezultatai tiriant du ruošinius buvo lyginami su nauja referentine reikšme, kuri pritariant mažiausiai dviem arba trim nepriklausomiems referentiniams patologams, buvo pripažįstama labiausiai neįprasta citologijos diagnozė.

Pakartotinio vertinimo proceso metu abiejų skaidrių ruošinius iš prieštarų atvejų („PrepStain“ sistemos paruoštų „SurePath slides“ (skaidrių) ir įprastai paruoštų skaidrių) analizavo antrasis citotechnologas, o naujai nustatyti neįprastumai buvo pridėti prie pradinės patikros. Tada trys referentiniai citopatologai vertino visus prieštarų atvejus, naudodami paslėptą protokolą. Šis griežtesnis referentinis metodas sumažino HSIL+ referentinių atvejų skaičių nuo 262, užfiksuotų atliekant pradinį tyrimą, iki 209, atliekant pakartotinį vertinimą. Šių 53 atvejų skirtumą galima paaiškinti toliau aprašytu būdu: 48 atvejai buvo diagnozuoti kaip LSIL ar mažiau rimti taikant griežtesnį referentinį metodą; atlikus pakartotinį vertinimą, 3 atvejų atitikimas buvo įvertintas kaip nepakankamas; likę 2 atvejai nebuvo vertinti atliekant paslėpto pakartotinio vertinimo tyrimą.

8 lentelė Pakartotinio vertinimo tyrimas. 209 pradinių HSL+ atvejų prieštarigų klaidų analizė, kai pradiniai atvejai buvo pakartotinai įvertinti taikant griežtesnius rėmimosi kriterijus ir įtraukiant tris nepriklausomus referentinius patologus

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	153	26	179
	Klaida	24	6	30
		177	32	209

Sėkmingai = HSIL+
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai, ASCUS / AGUS ir LSIL

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 26
„SurePath“ skaidrės: 24

8 lentelėje pateikiami atvejų, kuriuos referentinis patologas priskyrė prie HSIL+, rezultatai. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius, ASCUS / AGUS ir LSIL atvejus. Šiame palyginime LSIL buvo laikomas diagnostine klaida, kai atvejį nepriklausomas referentinis patologas priskyrė prie HSIL+. Diagnostinio jautrumo palyginimas parodė dviejų metodų statistinį atitikimą.

9 lentelė Pakartotinio vertinimo tyrimas. Vėžio atvejų prieštarigų klaidų analizė (HSIL nėra klaida; LSIL laikomas klaida).

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	32	3	35
	Klaida	3	0	3
		35	3	38

Sėkmingai = vėžio žymuo
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai, ASCUS / AGUS ir LSIL

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 3
„SurePath“ skaidrės: 3

9 lentelėje pateikiami atvejų (iš visų vietų), kurie pagal naują standartinį metodą vertinami kaip vėžys, rezultatai. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius, ASCUS / AGUS ir LSIL atvejus. LSIL vertinimas lėmė vieną klaidą. Visos kitos klaidos buvo dėl skaidrių vertinimo kaip ASCUS / AGUS arba WNL. Prieštarigų klaidų jautrumo analizė parodė padalytų mėginių tyrimo metodų statistinį atitikimą.

Paslėptame pakartotiniame vertinime buvo 2097 nauji atvejai, panaudoti pakartotiniams pradinių HSIL+ mėginiams paslėpti. Šių naujų atvejų ruošinių analizė ir palyginimas pateikiami 10 lentelėje.

10 lentelė Pakartotinio vertinimo tyrimas. 2097 tiesioginių vietų rezultatų palyginimas – be referentinio patologo

		Įprastai paruoštas PAP tepinėlis						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Iš viso
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	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
	Iš viso	1,710	203	3	104	70	7	2,097

Iš 2097 anksčiau aprašytų naujų atvejų, referentiniai patologai 77 diagnozavo kaip HSIL+. 11 lentelėje pateikiama šių 77 HSIL+ atvejų jautrumo analizė.

11 lentelė Pakartotinio vertinimo tyrimas. Visų vietų rezultatų, kai atvejai pagal standartinį metodą buvo priskirti HSIL+ prieštarigų klaidų analizei, palyginimas (LSIL šioje analizėje buvo laikoma klaida).

		Įprastai paruošta skaidrė		
		Sėkmingai	Klaida	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	Sėkmingai	25	21	46
	Klaida	21	10	31
		46	31	77

Sėkmingai = HSIL+
Klaida = WNL, reaktyvūs / reparaciniai, ASCUS / AGUS ir LSIL

McNemar tyrimo rezultatas: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Įprastai paruoštos skaidrės klaidos: 21
„SurePath“ skaidrės: 21

11 lentelėje pateikta prieštarigų klaidų analizė parodė, kad abiem ruošinių metodams būdingas vienodas HSIL+ praleidimo skaičius. Klaidos apima WNL, reaktyvius / reparacinius, ASCUS / AGUS ir LSIL atvejus. Statistinis tyrimas atskleidė atitikimą tarp dviejų padalytų mėginių dizaino metodų net ir tada, kai LSIL yra laikomas klaida, palyginti su HSIL+ referentine reikšme.

12 lentelėje apibendrinamos visų vietų gerybinių išvadų aprašomosios diagnozės.

12 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Gerybinių ląstelių pakitimų santrauka

Aprašomoji diagnozė (pacientų skaičius: 8 807)	„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)		Įprastai paruošta skaidrė	
	N	%	N	%
Gerybinių ląstelių pakitimai				
*Infekcija:				
<i>Candida</i> atmainos	440	5,0	445	5,1
<i>Trichomonas vaginalis</i>	118	1,3	202	2,3
Pūslelinė	8	0,1	6	0,1
Gardnerella infekcija	85	1,0	44	0,5
<i>Actinomyces</i> atmainos	6	0,1	2	<0,1
Bakterijos (kitos)	52	0,6	191	2,2
**Reaktyvūs reparaciniai pakitimai	424	4,8	319	3,6

* Anksčiau pateiktoje infekcijos kategorijoje buvo pastebėtos infekcinės medžiagos. Vienam atvejui gali būti būdinga daugiau nei vienas organizmų tipas.
** Reaktyvūs reparaciniai pakitimai apėmė reaktyvius pakitimus, susijusius su uždegimu, atrofiniu vaginitu, spinduliavimu ir varinės spirālės naudojimu, taip pat su tipiniu plokščialąstelinio, plokščialąstelinio metaplastinio arba stulpinio epitelio atsikūrimu.

Iš viso 8 807 atvejų buvo būdingas „netinkamas“ vertinimas bent vienoje iš bandymo vietų arba referentinių vietų. Viename arba abiejuose ruošiniuose papildomai 239 mėginiai buvo įvertinti kaip „netinkami“ vienoje ar abiejose bandymo vietose arba referentinėje vietoje. Iš 239 netinkamų atvejų 151 buvo pažymėtas tik įprastoms skaidrėms, 70 atvejų – tik „SurePath slides“ (skaidrėms) ir 18 buvo nustatyti tiek įprastose, tiek „SurePath slides“ (skaidrėse). Visi netinkami atvejai buvo pašalinti iš diagnostikos palyginimo pagal „Bethesda“ sistemos kategorijas, tačiau jie buvo vėl įtraukti atliekant ruošinių atitikimo palyginimą.

13 – 16 lentelėse pateikiami visų vietų ruošinių atitikimo rezultatai.

13 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Ruošinių atitikimo rezultatai

Ruošinių atitikimas (pacientų skaičius: 9 046)	„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)		Įprastai paruošta skaidrė	
	N	%	N	%
Tinkamas	7 607	84,1	6 468	71,5
Tinkami, tačiau riboti dėl:	1 385	15,3	2 489	27,5
Endocervikalinio komponento nebuvimo	1 283	14,2	1 118	12,4
Oro sausinimo artefakto	0	0	17	0,2
Tiršto tepinėlio	1	< 0,1	0	0
Neryškumo dėl kraujo	53	0,6	121	1,3
Neryškumo dėl uždegimo	102	1,1	310	3,4
Nepakankamų plokščialąstelinio epitelio ląstelių	4	< 0,1	7	0,1
Citolizės	10	0,1	11	0,1
Klinikinės istorijos nebuvimo	0	0	0	0
Nenurodyta	60	0,7	1 018	11,3
Netinkami vertinti dėl:	54	0,6	89	1,0
Endocervikalinio komponento nebuvimo	42	0,5	42	0,5
Oro sausinimo artefakto	0	0	0	0
Tiršto tepinėlio	0	0	2	< 0,1
Neryškumo dėl kraujo	7	0,1	6	0,1
Neryškumo dėl uždegimo	6	0,1	6	0,1
Nepakankamų plokščialąstelinio epitelio ląstelių	6	0,1	0	0
Citolizės	0	0	1	< 0,1
Klinikinės istorijos nebuvimo	0	0	0	0
Nenurodyta	37	0,4	32	0,5

Pastaba: kai kurie pacientai priskirti daugiau nei vienai grupei.

Referentinis patologas nustatė papildomus netinkamus atvejus ir bendras netinkamų rezultatų skaičius yra pateikiamas 15 lentelėje. Lentelėje SAT = tinkamas, SBL = tinkamas, bet ribotas dėl (konkrečios sąlygos), ir UNSAT = netinkamas.

14 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Visų klinikinių tyrimų vietų ruošinių atitikimo rezultatai

		Įprastai paruošta skaidrė			
		SAT	SBLB	UNSAT	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	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: McNemar tyrimo rezultatas: X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: McNemar tyrimo rezultatas: X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

14 lentelėje pateikiami ruošinių atitikimo palyginimo rezultatai abiejų ruošinių metodų atvejais. Naudojant „SurePath slides“ (skaidres), lyginant su įprastinėmis skaidrėmis, buvo nustatyta gerokai mažiau netinkamų ir SBLB atvejų.

15 lentelė Pirmasis padalytų mėginių tyrimas. Netinkamų rezultatų iš klinikinių tyrimų vietų ir referentinės vietos palyginimas

		Įprastai paruošta skaidrė		
		SAT	UNSAT	
„PrepStain“ paruošta „SurePath slide“ (skaidrė)	SAT	8 807	151	8 958
	UNSAT	70	18	88
		8 877	169	9 046

McNemar tyrimo rezultatas: X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

15 lentelėje pateikiamas tinkamų ir netinkamų ruošinių iš tyrimų vietų ir referentinių vietų vertinimų palyginimas. Naudojant „SurePath slides“ (skaidres), lyginant su įprastinėmis skaidrėmis, buvo nustatyta statistiškai reikšmingas mažesnis netinkamų atvejų skaičius.

16 lentelė Ruošinių atitikimo rezultatai pagal vietą – SBLB lygiai, kai nebuvo gimdos kaklelio komponento (ECC)

Vieta	Atvejai	„SurePath“ skaidrės SBLB be ECC N (%)	Įprastai paruoštos skaidrės SBLB, be 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)
Visos vietos	9 046	1 283 (14,2)	1 118 (12,4)

Gimdos kaklelio ląstelių nustatymas (16 lentelė) įvairiose tyrimo vietose buvo skirtingas. Apskritai, lyginant įprasto PAP tepinėlio ir „SurePath“ skaidrių metodus, buvo nustatytas 1,8 % gimdos kaklelio ląstelių aptikimo skirtumas, o tai panašu į ankstesnių tyrimų, taikiusių padalytų mėginių metodą, rezultatus.^{16,17}

„PrepStain“ sistema pagamintoms „SurePath slides“ (skaidrėms) padalytų mėginių metodo palyginimuose, skirtingomis pacientų populiacijomis ir įvairiomis laboratorijos sąlygomis, buvo būdingi panašūs rezultatai kaip ir įprastiems PAP tepinėliams. Be to, naudojant „SurePath slides“ (skaidres), lyginant su įprastais PAP tepinėliais, buvo nustatyta žymiai mažiau netinkamų ir SBLB atvejų. Todėl „SurePath slide“ (skaidrės) nustatant atipines ląsteles, ikivėžinius pakitimus, gimdos kaklelio vėžį ir visas kitas citologines grupes, kaip apibrėžia „Bethesda“ sistema, gali būti naudojamos kaip įprastų PAP tepinėlių pakaitalas.

„SUREPATH SLIDE“ (SKAIDRĖS) ĮVERTINIMAS NAUDOJANT „PREPMATE“ IR RANKINIUS METODUS

„TriPath Imaging“ atliko žvalgomąjį, daugiacentrį klinikinį tyrimą, siekdamą įvertinti dvi FDA patvirtintos „SurePath slides“ (skaidrių) ruošimo procedūros modifikacijas. Patvirtinto „SurePath slides“ (skaidrių) ruošimo proceso modifikacijos yra šios:

- Pridedamas „PrepMate“ priedas („PrepMate“ metodas), kuris automatizuoja pirmuosius rankinius „PrepStain“ laboratorijos proceso žingsnius. „PrepMate“ automatiškai sumaišo ir pašalina iš „SurePath Preservative Vials“ (konservavimo buteliukų) paimtą mėginį, o tada sluoksniais deda mėginį ant „PrepStain Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento) tyrimo mėgintuvėlyje.
- Pridedamas rankinis metodas, kai dažydamas ląstelių suspensiją ir skaidrę vietoj „PrepStain“ instrumento laboratorijos specialistas rankiniu būdu sluoksniais deda ląstelių suspensiją ant skaidrės ir tada nudažo.

Šio tyrimo metu atliekant paslėptą dviejų alternatyvių, dabartiniu metu patvirtintos „SurePath slides“ (skaidrių) ruošimo procedūros metodų palyginimą, buvo įvertinta daugiau nei 400 atvejų. Palyginimas buvo pagrįstas morfologiniais ir kokybės kriterijais, taikytais abiem metodais ruošiamoms skaidrėms.

Pagrindiniai tyrimo tikslai buvo:

- Įvertinti „SurePath slides“ (skaidrių), paruoštų taikant „PrepMate“ metodą, morfologinius ir kokybės aspektus, lyginant su skaidrėmis, kurios buvo paruoštos pagal patvirtintą metodą, naudojant „PrepStain“ sistemą (vadinamą „PrepStain“ metodu).
- Įvertinti „SurePath slides“ (skaidrių), paruoštų taikant rankinį metodą, morfologinius ir kokybės aspektus, lyginant su skaidrėmis, kurios buvo paruoštos pagal patvirtintą „PrepStain“ metodą.

Papildomi tyrimo tikslai buvo:

- Nustatyti, ar derėjimo tarp patvirtinto „PrepStain“ metodo ir „PrepMate“ metodo lygis buvo didesnis nei būtų galima tikėtis vien dėl atsitiktinumo.
- Nustatyti, ar derėjimo tarp patvirtinto „PrepStain“ metodo ir rankinio metodo lygis buvo didesnis nei būtų galima tikėtis vien dėl atsitiktinumo.
- Įvertinti mėginio atitikimą pagal „PrepStain“ sistemos standartus, taikomus „PrepMate“ metodu ruošiamoms „SurePath slides“ (skaidrėms).
- Įvertinti mėginio atitikimą pagal „PrepStain“ sistemos standartus, taikomus rankiniu metodu ruošiamoms „SurePath slides“ (skaidrėms).

„PREPMATE“ PRIEDAS

Pridedamas „PrepMate“ priedas, kuris automatizuoja du rankinius „PrepStain“ laboratorinio proceso žingsnius – mėginio maišymą ir sluoksniavimą. „PrepMate“ kruopščiai išmaišo ir atsargiai iš „SurePath Preservative Vials“ (konservavimo buteliukų) paima mėginį, o tada sluoksniais deda mėginį ant „PrepStain Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento) tyrimo mėgintuvėlio. Į instrumento dėklą dedamas mėginių stovėlis su iš anksto sudėtais mėginių buteliukais, švirkštimo pipetėmis ir tyrimo mėgintuvėliais (su tirštumo skysčiu). Stovelyje gali būti iki dvylikos buteliukų, mėgintuvėlių ir švirkštimo pipelių, kurie išdėliojami trimis eilėmis po keturis. Buteliukai, švirkštimo pipetės ir mėgintuvėliai yra vienkartiniai. Juos galima naudoti tik vieną kartą, taip išvengsite mėginio užteršimo galimybių.

RANKINIS METODAS

Rankinis ląstelių suspensijos sluoksniavimo ant skaidrių ir ruošinio dažymo metodas – tai rankiniu būdu atliekama procedūra. Ginekologinio mėginio paėmimo ir apdoravimo procedūros tiek rankiniam, tiek patvirtintam „PrepStain“ metodams yra vienodos iki „PrepStain“ instrumento panaudojimo žingsnio.

Taikant „PrepStain“ metodą, centrifuguotos ląstelių granulės yra dedamos tiesiogiai ant „PrepStain“ instrumento automatizuotai apdoroti, siekiant pagaminti nudažytas „SurePath slides“ (skaidres).

Taikant rankinį metodą, į centrifuguotas ląstelių granules įpilama dejonizuoto vandens, o tada visas išsukama siekiant iš naujo suspenduoti ir atsitiktinai paimti mėginį. Tada mėginio medžiaga perkeliama ant nusėdinimo kameroje įtaisytos „SurePath PreCoat slide“ (skaidrės). Kai mėginys nusėda ant skaidrės, mėginys dažomas atliekant partijos Papanicolaou dažymo procedūrą.

SKAIDRIŲ APSKAITA

17 lentelėje parodoma, kiek skaidrių buvo panaudota klinikiniuose tyrimuose. Svarbu pažymėti, kad tyrimo rinkinį sudarė **trys skaidrės vienam atvejui**.

17 lentelė Skaidrių apskaita

	Atvejai	Skaidrės
Visas į tyrimą įtrauktų skaidrių skaičius	471	1 413
Visas iš analizės pašalintų skaidrių skaičius	–68	–204
Ne visa dokumentacija	–39	–117
Netaisyklingai paruoštos skaidrės	–24	–72
Kitos pašalinimo priežastys*	–5	–15
Visas į analizę įtrauktų skaidrių skaičius	403	1 209

* Trūkstanti mėginiai, sudubliuoti pacientų numeriai ir t. t.

POPULIACIJOS DEMOGRAFINĖS CHARAKTERISTIKOS

18 lentelėje pateikiami visų į tyrimo populiaciją įtrauktų atvejų pacientų amžiaus demografiniai duomenys.

18 lentelė Pacientų demografiniai duomenys

Amžius	Atvejų skaičius
19 m. arba jaunesni	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Iš viso	403

19 lentelėje pateikiama visų į tyrimo populiaciją įtrauktų atvejų dabartinė klinikinė informacija, o 20 lentelėje – klinikinė istorija. Atkreipkite dėmesį į tai, kad buvo galima pasirinkti daugiau nei vieną variantą, taigi bendras atvejų skaičius gali nebūti susijęs su bendru tyrimo populiacijos atvejų skaičiumi.

19 lentelė Dabartinė klinikinė informacija

Klinikinė informacija	Atvejų skaičius
Ciklinis	241
Nereguliarus ciklas	69
Histerektomija	16
Neštumas	9
Po aborto	0
Po gimdymo	9
Pomenopauzė	58
Perimenopauzė	1
Nusilpęs imunitetas	0
Neįprastas GYN pateikimas	0
Makšties išskyros	137
Estrogeno pakeitimo terapija	19
Varinė spiralė	2
Geriamieji kontraceptikai / implantas	20
Jokių kontraceptinių priemonių	181
Informacijos nėra	22

20 lentelė Klinikinė istorija

Istorija	Atvejų skaičius
Ankstesnė neįprasta citologija	13
Neįprastas kraujavimo pasireiškimas	36
Biopsija	3
Vėžio atvejis	1
Chemoterapija	0
Spinduliuotė	0
Kolposkopija	9
ŽIV / AIDS	0
ŽPV (Wart virusas)	0
Pūslelinė	1
BTL istorija*	1
PID istorija**	57
Nė vienas nepažymėtas	363

* Abiejų pusių kiaušintakių perrišimas

* Dubens uždegimas

TYRIMO REZULTATAI

Šio tyrimo tikslas buvo parodyti, kad naudojant „PrepMate“ metodo ir rankinio metodo procedūras paruoštos „SurePath slides“ (skaidrės) yra geresnės nei skaidrės, paruoštos taikant patvirtintą „PrepStain“ metodą. Klinikiniai duomenys rodo, kad „PrepMate“ metodu ir rankiniu metodu paruoštos skaidrės morfologijos ir kokybės atžvilgiu yra geresnės už tas, kurios buvo paruoštos naudojant patvirtintą „PrepStain“ metodą.

Klinikiniai duomenys taip pat rodo, kad „PrepMate“ metodui ir rankiniam metodui būdingas toks pats diagnostikos veikimas kaip ir patvirtintam „PrepStain“ metodui. Be to, „PrepMate“ metodu ir rankiniu metodu paruoštų skaidrių atitikimas nesiskiria nuo tų skaidrių, kurios buvo paruoštos naudojant patvirtintą „PrepStain“ metodą. Šie rezultatai patvirtina, kad „PrepMate“ metodas ir rankinis metodas prilygsta patvirtintam „PrepStain“ metodui.

MĖGINIO MORFOLOGIJA IR KOKYBĖ

21 lentelėje pateikiami pagrindinių tyrimo tikslų rezultatai. Kiekvienu metodu paruoštų skaidrių priimtumas buvo vertinamas pagal lentelėje pateiktus morfologijos ir kokybės kriterijus. Buvo apskaičiuota kiekvieno kriterijaus priimtinių skaidrių dalis bei atitinkamas tikslus 95 % patikimumo intervalas.

21 lentelė Priimtumo kriterijaus lygių ir patikimumo intervalo (PI) palyginimas

		Skaidrės paruošimo metodas			
		„PrepStain“		„PrepMate“	
		Lygis (n/N)	Tikslus 95 % PI	Lygis (n/N)	Tikslus 95 % PI
Priimtumo kriterijus	Dažymas	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985
	Aiškumas	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960
	Branduolys	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Citologija	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Susigrūpavimas	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Ląstelių kiekis	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655

„PrepMate“ metodo ir rankinio metodo priimtumo lygiai beveik siekia arba yra didesni už „PrepStain“ metodo. Be to, 95 % tikslūs kiekvieno „PrepMate“ metodo ir rankinio metodo kriterijaus patikimumo intervalai gerokai viršija tuos, kurie būdingi patvirtintam „PrepStain“ metodui. Tai reiškia, kad „PrepMate“ metodu ir rankiniu metodu paruoštos skaidrės morfologijos ir kokybės atžvilgiu yra panašios į tas, kurios buvo paruoštos naudojant patvirtintą „PrepStain“ metodą. Todėl patvirtinto metodo ir dviejų tyrimo metodų paruošimo kokybė nesiskiria.

DIAGNOSTINIS SUDERINAMUMAS

Šioje analizėje lyginamos skaidrių diagnozės, paruoštos naudojant kiekvieną metodą. Šie duomenys gauti iš padalytų mėginių, 22 ir 23 lentelėse pateiktos diagnozių formos yra pagrįstos kiekvieno tyrimo skaidrių ruošimo metodo („PrepMate“ metodo ir rankinio metodo) poriniais mėginiais, kai tyrimo metodai lyginami su patvirtintu „PrepStain“ metodu. Idealu, jeigu diagnozė, gauta iš skaidrių, kurios paruoštos naudojant du skirtingus metodus, sutaps. Tai iliustruota nurodant skaidrių, kurios nustatė identiškas diagnozes, skaičių – šis skaičius pateiktas pagrindinėje kiekvienos lentelės įstrižainėje.

Pirmasis suderinamumo matas yra skaidrių pagrindinėje įstrižainėje dalis ir atitinkami tikslūs 95 % patikimumo intervalai. Antrasis suderinamumo matas gaunamas iš kapa statistikos, šie kiekvieno palyginimo duomenys apskaičiuojami ir patikrinami. Patikrinimas nustato, ar derėjimo tarp dviejų metodų lygis buvo didesnis nei būtų galima tikėtis vien dėl atsitiktinumo. Kadangi pastebėjimai yra išdėstyti tam tikra tvarka, svarbiausia turėti reikšmes, esančias ant įstrižainės arba greta pagrindinės įstrižainės. Svorinė kapa statistika suteikia daugiau svarbos pastebėjimams, kurie lentelėse yra ant įstrižainių arba greta įstrižainių.

PATVIRTINTO „PREPSTAIN“ METODO IR „PREPMATE“ METODŲ PALYGINIMAS

22 lentelėje skaidrių skaičius pagrindinėje įstrižainėje siekia 367 (2+334+8+6+5+11+1), o skaidrių dalis pagrindinėje įstrižainėje sudaro 0,9107 (367/403), kai tikslus 95 % patikimumo intervalas siekia nuo 0,8785 iki 0,9366.

Jeigu iš lentelės ištrinant pirmąją eilutę ir pirmąjį stulpelį pašalinamos netinkamos skaidrės, lieka 397 skaidrės. Skaidrių dalis pagrindinėje įstrižainėje sudaro 0,9194 (365/397), kai tikslus 95 % patikimumo intervalas siekia nuo 0,8881 iki 0,9442.

22 lentelėje pateikti rezultatai rodo, kad „PrepStain“ metodas ir „PrepMate“ metodas turi didelę skaidrių dalį, kuriai būdingas diagnostinis suderinamumas, kaip rodo skaidrių dalis pagrindinėje lentelės įstrižainėje. Toliau svorinės kapos analizė rodo, kad suderinamumas buvo daug didesnis nei galėtų būti priskiriamas vien tikimybei.

		„PrepStain“ metodo diagnozės									
„PrepMate“ metodo diagnozės	Unsats	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
	Atipija	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	1	1	1
	Iš viso	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

PATVIRTINTO „PREPSTAIN“ METODO IR RANKINIO METODŲ PALYGINIMAS

23 lentelėje skaidrių skaičius pagrindinėje įstrižainėje yra 353 (3+315+6+10+7+11+1). Skaidrių dalis pagrindinėje įstrižainėje sudaro 0,8759 (353 / 403). Tikslus binominis šios dalies 95 % patikimumo intervalas yra nuo 0,8397 iki 0,9065.

Jeigu iš lentelės ištrinant pirmąją eilutę ir pirmąjį stulpelį pašalinamos netinkamos skaidrės, lieka 398 skaidrės. Skaidrių dalis pagrindinėje įstrižainėje sudaro 0,8794 (350 / 398), kai tikslus 95 % patikimumo intervalas siekia nuo 0,8433 iki 0,9097. 23 lentelėje pateikti rezultatai rodo, kad „PrepStain“ metodas ir rankinis metodas turi didelę skaidrių dalį, kuriai būdingas diagnostinis suderinamumas, kaip rodo skaidrių dalis pagrindinėje lentelės įstrižainėje. Toliau svorinės kapos analizė rodo, kad suderinamumas buvo daug didesnis nei galėtų būti priskiriamas vien tikimybei. Todėl patvirtinto metodo ir dviejų tyrimo metodų diagnostinis veikimas nesiskiria.

		„PrepStain“ metodo diagnozės									
Rankinio metodo diagnozės	Unsats	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
	Atipija	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	1	1	1
	Iš viso	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

SKAIDRIŲ ATITIKIMAS

Buvo įvertintas visų ruošimo metodų skaidrių atitikimas. Duomenys analizuoti naudojant dvipusį McNemar tyrimą.¹⁸

24 lentelėje pateikiami atitikimo rezultatai, kai lyginamas patvirtintas „PrepStain“ metodas ir „PrepMate“ metodas.

24 lentelė „PrepMate“ ir „PrepStain“ metodų skaidrių atitikimo rezultatai

„PrepStain“ metodo rezultatas					
„PrepMate“ metodo rezultatas	SAT arba SBLB UNSAT	SAT arba SBLB		UNSAT	
		398	3		401
		0	2		2
		398	5		403

25 lentelėje pateikiami atitikimo rezultatai, kai lyginamas patvirtintas „PrepStain“ metodas ir rankinis metodas.

25 lentelė Rankinio ir „PrepStain“ metodų skaidrių atitikimo rezultatai

„PrepStain“ metodo rezultatas					
Rankinio metodo rezultatas	SAT arba SBLB UNSAT	SAT arba SBLB		UNSAT	
		398	2		400
		0	3		3
		398	5		403

Šie du palyginimai rodo, kad „PrepMate“ metodas ir rankinis metodas skaidrių atitikimu nesiskiria nuo patvirtinto „PrepStain“ metodo.

TIESIOGINIO MĖGINIŲ ĖMIMO Į BUTELIUKĄ TYRIMAS

Pagal pradinį FDA „PrepStain“ sistemos patvirtinimą, „TriPath Imaging“ atliko didelį, daugiacentrį „PrepStain“ sistemos tyrimą, kai sistema buvo naudota imant mėginius tiesiogiai į buteliuką. Ankstesniuose klinikiniuose tyrimuose buvo naudotas padalytų mėginių metodas, kuriame mėginys iš pradžių buvo naudotas įprastai PAP tepinėlio skaidrei sukurti, o tada likusi mėginio dalis buvo dedama į „SurePath“ surinkimo skystį ir apdorojama „PrepStain“ sistemos siekiant sukurti „SurePath slide“ (skaidrę). Yra aiškiai įrodyta, kad padalytų mėginių metodas nepakankamai įvertina tikrąjį tyrimo, kuris ruošiamas iš likusios ląstelinės medžiagos, veikimą¹².

Šio tyrimo metu buvo lyginamas „SurePath slides“ (skaidrių), pagamintų surinkus tiesiogiai į buteliuką, kad būtų atliekami įprasti PAP tepinėliai, veikimas. Gauti „SurePath“ rezultatai buvo lyginami su rezultatais, gautais iš istorinės įprastinių PAP tepinėlių kohortos. Šis tyrimas vertino, ar „SurePath slides“ (skaidrės) pagerino žymių plokščialąstelių intraepitelinį pakitimų (HSIL), adenokarcinomos in-situ ir vėžio žymenų (HSIL+) nustatymą. Abiejų skaidrių tipams buvo surinkti visi prieinami biopsijos duomenys.

„SurePath“ populiaciją sudarė 58 580 skaidrės, surinktos iš 57 klinikų, kurios beveik 100 % surinktų įprastinių PAP tepinėlių pavertė „SurePath“ mėginiais. Šiose klinikose surinkti mėginiai buvo siunčiami į tris klininkines vietas apdoroti.

Įprastinę populiaciją sudarė 58 988 skaidrės iš tų pačių klinikų kaip ir „SurePath slides“ (skaidrės). Ši istorinė populiacija buvo surinkta pradedant nuo naujausių skaidrių, prieš klinikoms paverčiant į „SurePath“ skaidres, o tada imant senesnes skaidres, kol įprastinių ir „SurePath slide“ (skaidrių) populiacijos kiekvienoje klinikinėje vietoje buvo apytiksiai vienodo skaičiaus.

Šio tyrimo rezultatai parodė, kad „SurePath slides“ (skaidrėms) buvo būdingas 405/58 580 aptikimo lygis, kai įprastinių skaidrių aptikimo lygis siekė 248/58 988, taigi atitinkamai aptikimo lygiai siekė 0,691 % ir 0,420 % (žr. 26 lentelę). Šie klinikiniai ir populiacijos tyrimo rezultatai parodė, kad „SurePath slides“ (skaidrių) HSIL+ pakitimų aptikimo lygis padidėjo 64,4 % (p<0,00001).

26 lentelė Aptikimo lygių pagal vietą palyginimas

Vieta	Įprastai paruošta skaidrė			„SurePath“ skaidrė		
	Iš viso	HSIL+	Procentai (%)	Iš viso	HSIL+	Procentai (%)
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
Iš viso	58 988	248	0,420	58 580	405	0,691

LSIL+

Vieta	Įprastai paruošta skaidrė			„SurePath“ skaidrė		
	Iš viso	LSIL+	Procentai (%)	Iš viso	LSIL+	Procentai (%)
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
Iš viso	58 988	960	1,627	58 580	1975	3,371

ASCUS+

Vieta	Įprastai paruošta skaidrė			„SurePath“ skaidrė		
	Iš viso	ASCUS+	Procentai (%)	Iš viso	ASCUS+	Procentai (%)
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
Iš viso	58 988	2 062	3,496	58 580	3 586	6,122

Netinkamas

Vieta	Įprastai paruošta skaidrė			„SurePath“ skaidrė		
	Iš viso	UNSAT+	Procentai (%)	Iš viso	UNSAT+	Procentai (%)
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
Iš viso	58 988	315	0,534	58 580	130	0,222

Pastaba: veikimas pagal vietą gali skirtis. Visos laboratorijos privalo kruopščiai stebėti savo darbo kokybę

PROCEDŪRA

Visos procedūros, kaip ruošti „SurePath slides“ (skaidres), yra pateiktos „PrepStain“ sistemos operatoriaus vadove.

LITERATŪRA

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



PAVADINIMAS IR VEIKLOS VIETA

„TriPath Imaging, Inc.“

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 JAV



„Benex Limited“

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011 m. „TriPath Imaging, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Prospect sistem PrepStain®

REF 490523

REF 490529

REF 490535

REF 490542

UTILIZARE SPECIFICĂ

Sistemul PrepStain® este un proces de pregătire a celulelor în straturi subțiri, pe bază de lichid. Sistemul PrepStain produce lamele SurePath® care au drept scop înlocuirea frotiurilor ginecologice Pap convenționale. Lamelele SurePath sunt destinate utilizării la screening-ul și detectarea cancerului de col uterin, a leziunilor precanceroase, a celulelor atipice și a tuturor celorlalte categorii citologice, conform definiției din Sistemul Bethesda pentru raportarea diagnosticilor citologice de col uterin/vaginale.^{1, 19}

SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) este un mediu corespunzător de colectare și transport pentru probele ginecologice testate cu BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q⁺ și *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat). Consultați prospectul testului pentru instrucțiuni legate de utilizarea SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) la pregătirea probelor spre a fi folosite cu aceste teste.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII PENTRU PROCEDURĂ

Sistemul PrepStain transformă o suspensie lichidă a unui eșantion de celule de col uterin într-un strat subțire și omogen de celule, colorat separat, păstrând, în același timp, grupurile de celule de diagnosticare.²⁻⁹ Procesul include conservarea celulelor, randomizarea, îmbogățirea materialului de diagnosticare, pipetarea, sedimentarea, colorarea și acoperirea cu lamele de sticlă pentru a crea o lamelă SurePath pentru utilizare în screening și clasificare citologică de rutină, conform definiției din sistemul Bethesda.¹ Lamela SurePath prezintă o populație de celule colorate bine conservate, dispuse într-un cerc cu diametrul de 13 mm. Artefactul de uscare în aer, ascunderea, suprapunerea materialului celular și reziduurile sunt eliminate în mare parte. Numărul de leucocite este redus semnificativ, permițând o vizualizare mai ușoară a celulelor epiteliale, a celulelor relevante pentru diagnosticare și a organismelor infecțioase.

Procesul SurePath începe cu personal medical calificat care utilizează un dispozitiv de recoltare de tip perie (de ex., Cervex Brush® Rovers Medical Devices B.V., Oss - Olanda) sau o combinație perie/spatulă de plastic endocervicală (de ex., Cytobrush® Plus GT și spatula Pap Perfect®, Medscand (SUA) Inc., Trumbull, CT) cu cap(ete) detașabil(e) pentru a colecta o probă ginecologică. În loc să întindă celulele colectate de dispozitivele de recoltare pe o lamelă de sticlă, capetele dispozitivelor de recoltare sunt desprinse de mâner și sunt plasate într-o fiolă de SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant). Fiolă cu capac și etichetă este trimisă împreună cu documentele corespunzătoare la laborator pentru procesare. Capetele dispozitivelor de recoltare nu sunt scoase niciodată din fiola de conservant ce conține eșantionul recoltat.

În laborator, eșantionul conservat este amestecat prin centrifugare* și apoi transferat pe PrepStain Density Reagent (Reactiv de densitate). O etapă de îmbogățire, constând din sedimentarea centrifugală prin Reactivul de densitate, îndepărtează parțial din eșantion reziduurile inutile pentru diagnosticare și celulele inflamatoare în exces. După centrifugare, tableta de celule este resuspendată, amestecată și transferată într-o PrepStain Settling Chamber (Cameră de decantare) montată pe o lamelă SurePath PreCoat. Celulele se sedimentează gravitațional, apoi sunt colorate utilizând o procedură de colorare Papanicolaou modificată. Lamela este curățată cu xilen sau cu un înlocuitor de xilen și acoperită cu o lamelă de sticlă. Celulele, dispuse într-un cerc cu diametrul de 13 mm, sunt examinate la microscop de tehnicieni citologi și patologi calificați, care au acces la alte informații relevante despre pacient.

* Notă: Pentru testarea auxiliară, partea alicotă de maximum 0,5 mL poate fi extrasă după această etapă de centrifugare din cadrul procesului SurePath LBC Test (Test PBL).

LIMITĂRI

- Probele ginecologice pentru preparate utilizând sistemul PrepStain trebuie colectate utilizând un dispozitiv de recoltare de tip perie sau un dispozitiv combinat perie/spatulă de plastic endocervicală cu cap(ete) detașabil(e), în conformitate cu procedura de recoltare standard furnizată de producător. Nu trebuie utilizate spatule de lemn cu sistemul PrepStain. Combinațiile perie/spatulă de plastic care nu sunt detașabile nu trebuie utilizate cu sistemul PrepStain.
- Instruirea de către persoane autorizate reprezintă o condiție prealabilă pentru producerea și evaluarea lamelelor SurePath. Tehnicienii citologi și patologi vor fi instruiți în evaluarea morfologiei pe lamelele SurePath. Instruirea va include o examinare a competenței. Laboratoarele care achiziționează sistemul beneficiază de instruire pentru utilizarea lamelei instrucționale și a seturilor de testare. TriPath Imaging, Inc. va furniza, de asemenea, asistență la pregătirea lamelelor de instruire din propriile populații de pacienți ai fiecărui client.
- Funcționarea corespunzătoare a sistemului PrepStain necesită utilizarea exclusiv a acelor consumabile acceptate de TriPath Imaging sau recomandate de TriPath Imaging pentru utilizarea cu sistemul PrepStain. Consumabilele folosite trebuie eliminate în mod corespunzător, în conformitate cu reglementările instituționale și guvernamentale.
- Toate consumabilele sunt destinate unei singure utilizări și nu pot fi refolosite.
- Un volum de 8,0 ± 0,5 mL de eșantion colectat în SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) este necesar pentru procesul SurePath LBC Test (Test PBL).

Reactivi



În scopul diagnosticului in vitro. Doar pentru uz de laborator.

Avertismente



SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) conține o soluție apoasă de etanol denaturat. Amestecul conține cantități mici de metanol și izopropanol. Nu ingerați.



PrepStain Density Reagent (Reactiv de densitate) conține azidă de sodiu. Nu ingerați. Azida de sodiu poate reacționa cu plumbul sau cu țevile de cupru și poate forma azide de metal puternic explozive. Când sunt eliminate, clătiți-le cu un volum mare de apă pentru a preveni acumularea azidelor. Pentru informații suplimentare, consultați publicația DHHS (NIOSH) Nr. 78-127 Curent 13, emisă de Centrele de control și prevenire a bolilor. Consultați site-ul Web: www.cdc.gov/niosh/78127_13.html.



Culoarea citologică a combinației PrepStain EA/OG conține alcool. Toxic dacă este ingerat. Nu respirați vapori. A se utiliza în spații aerisite corespunzător. Evitați contactul cu pielea și ochii. Puternic inflamabil.

PRECAUȚII

- Trebuie urmate bunele practici de laborator și toate procedurile pentru utilizarea sistemului PrepStain trebuie respectate cu strictețe.
- Reactivii trebuie depozitați la temperatura camerei (între 15° și 30° C) și utilizați înainte de data expirării pentru a asigura o performanță corespunzătoare. Condițiile de depozitare pentru SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) fără eșantioane citologice sunt de maximum 36 de luni de la data fabricației, la temperatura camerei (între 15° și 30° C). Limita de depozitare pentru SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) cu eșantioane citologice este de 6 luni la temperatură scăzută (între 2° și 10° C) sau de 4 săptămâni la temperatura camerei (între 15° și 30° C). SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) conținând eșantion citologic, destinat utilizării cu BD ProbeTec™ CT Q⁺ și GC Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat) poate fi depozitat și transportat timp de maximum 30 de zile la 2° – 30° C, înainte de transferarea în Tuburile de diluare pentru proba citologică pe bază de lichid (PBL) pentru BD ProbeTec Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat).
- Evitați împrăștierea sau generarea de aerosoli. Operatorii trebuie să utilizeze echipament adecvat de protecție corporală, pentru mâini și ochi.
- Eficiența antimicrobiană a SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) a fost testată contra următoarelor: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* și *Aspergillus niger* și s-a stabilit că este eficient. Eșantioanele de SurePath Preservative (Conservant) inoculate cu 10⁶ CFU/mL din fiecare specie nu au prezentat nicio creștere după 14 zile (28 de zile pentru *Mycobacterium tuberculosis*) de incubare în condiții standard. În orice caz, trebuie luate întotdeauna măsuri de precauție universale pentru manipularea în siguranță a lichidelor biologice.
- Nerespectarea procedurilor recomandate, așa cum sunt prezentate în Manualul operatorului sistemului PrepStain, poate compromite performanța.

EXTRAGERE OPȚIONALĂ A PĂRȚII ALICOTE

- În SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) există suficient volum pentru a permite extragerea a maximum 0,5 mL de amestec omogen de celule și lichid pentru testare auxiliară, înainte de SurePath Pap Test (Test Pap), rămânând un volum suficient și pentru testarea Pap.
- Deși nu există nicio dovadă a faptului că extragerea unei părți alicote din SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) afectează calitatea probei pentru testarea citologică, pot apărea cazuri rare de alocare greșită a materialului de diagnosticare corespunzător în cadrul acestui proces. Este posibil ca personalul medical să fie nevoit să obțină o probă nouă, dacă rezultatele nu se corelează cu istoricul clinic al pacientului. În plus, citologia abordează probleme clinice diferite decât testarea pentru boli cu transmisie sexuală (BTS); prin urmare, este posibil ca extragerea părții alicote să nu fie o practică potrivită pentru toate situațiile clinice. Dacă este necesar, se poate colecta o probă separată pentru testarea BTS, în loc să se extragă o parte alicotă din SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant).
- Extragerea părții alicote din probe cu compoziție celulară redusă poate lăsa material insuficient în SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) pentru pregătirea unui test Pap SurePath satisfăcător.
- Partea alicotă trebuie extrasă înainte de procesarea SurePath Pap Test (Test Pap). O singură parte alicotă se poate extrage din SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) înainte de efectuarea testului Pap, indiferent de volumul părții alicote.

Procedură

1. Pentru a asigura un amestec omogen, SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) trebuie centrifugată timp de 10-20 de secunde, iar partea alicotă de 0,5 mL trebuie extrasă în maximum un minut de la centrifugare.
2. Pentru extragerea părții alicote trebuie utilizat un vârf de pipetă cu barieră de aerosoli din polipropilenă, dimensionat în mod corespunzător pentru volumul extras. *Notă:* nu trebuie utilizate pipete serologice. Trebuie respectate bunele practici de laborator pentru a evita introducerea de contaminanți în SurePath Preservative Fluid collection vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) sau în partea alicotă. Extragerea părții alicote trebuie să se facă într-o locație adecvată, în afara zonei în care se execută amplificarea.
3. Verificați vizual materialul părții alicote din pipetă pentru a detecta particule mari sau semisolide. Prezența unor astfel de materiale în timpul extragerii materialului părții alicote necesită returnarea întregului material în fiola cu probă și descalificarea probei respective pentru testare auxiliară, înainte de efectuarea testului Pap.
4. Pentru instrucțiuni legate de procesarea părții alicote utilizând BD ProbeTec™ CT Q⁺ și GC Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat), consultați prospectul testului furnizat de producător.

MATERIALE NECESARE

Consultați Manualul operatorului sistemului PrepStain pentru informații complete privitoare la reactivi, componente și accesorii. Nu toate materialele enumerate mai jos sunt necesare pentru pregătirea manuală a lamelelor SurePath (fără utilizarea instrumentului PrepStain).

Materiale furnizate

- Instrument PrepStain
- SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant) (include SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant))
- Dispozitiv(e) de recoltare cervicală cu cap(ete) detașabil(e)
- PrepStain Density Reagent (Reactiv de densitate)
- PrepStain Syringing Pipettes (Pipete cu seringă)
- PrepStain Settling Chambers (Camere de decantare)
- Kit colorare citologică
- Lamele SurePath PreCoat
- Tuburi centrifuge
- Rackuri pentru lamele și tuburi
- Vârfuri de transfer și aspirare de unică folosință

Materiale necesare, dar nefurnizate

- Mixer de centrifugare
- Apă deionizată (pH între 7,5 și 8,5)
- Izopropanol și alcool de clasă reactiv
- Agent de curățare, mediu de montare și lamele de acoperire din sticlă

Depozitare

Condițiile de depozitare pentru SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) fără eșantioane citologice sunt de maximum 36 de luni de la data fabricației, la temperatura camerei (între 15° și 30° C).

Limita de depozitare pentru SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) cu eșantioane citologice este de 6 luni la temperaturi scăzute (între 2° și 10° C) sau de 4 săptămâni la temperatura camerei (între 15° și 30° C).

SurePath Preservative Fluid (Lichid conservant) conținând eșantion citologic, destinat utilizării cu BD ProbeTec CT Q⁺ și GC Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat) poate fi depozitat și transportat timp de maximum 30 de zile la 2° – 30° C, înainte de transferarea în Tuburile de diluare pentru proba citologică pe bază de lichid (PBL) pentru BD ProbeTec Q⁺ Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat).

INTERPRETAREA PENTRU DIAGNOSTICARE ȘI CARACTERUL ADECVAT AL PREPARATULUI

După instruirea utilizatorului autorizată de TriPath Imaging cu privire la sistemul PrepStain și la lamelele SurePath, criteriile de diagnosticare citologică ale sistemului Bethesda utilizate în prezent în laboratoarele citologice pentru frotiurile Pap convenționale sunt valabile și pentru lamelele SurePath.¹ Noile îndrumări recomandate în Sistemul de raportare Bethesda 2001 se adresează preparatelor pe bază de lichid și definesc modul în care se determină compoziția celulară adecvată în mod specific pentru aceste preparate.

În absența celulelor anormale, un preparat este considerat nesatisfăcător dacă una sau mai multe dintre următoarele condiții sunt prezente:

- (7) Numere neadecvate de celule de diagnosticare (mai puțin de 5.000 de celule epiteliale scuamoase per preparat). Următoarele sunt procedurile recomandate pentru estimarea numărului de celule epiteliale scuamoase bine conservate pe lamelele SurePath:

- Pentru fiecare model de microscop utilizat la screening, studiați manualul pentru microscop al producătorului sau contactați producătorul microscopului pentru a determina aria câmpului vizual utilizând ocularul preferat și obiectivul 40x. În mod alternativ, calculați Aria câmpului utilizând un hemocitometru sau o scală similară de măsurare a lamelelor microscopice (Aria câmpului = πr^2 unde r este raza câmpului).

Numărul mediu minim de celule per câmp de obiectiv 40x trebuie determinat prin împărțirea ariei aproximative de depunere a celulelor de 130 mm² a lamelei SurePath la aria câmpului pentru microscopul respectiv. Numărul rezultat este împărțit apoi la numărul minim de celule de 5.000. Numărul rezultat reprezintă numărul acceptabil mediu minim recomandat pentru celule epiteliale în câmpul vizual al unui obiectiv 40x. Înregistrați acest număr și păstrați-l pentru referința de rutină a tehnicianului citolog. Îndrumările Bethesda 2001 ce indică numărul aproximativ de celule per câmp pentru un preparat de 13 mm.

- Trebuie numărate cel puțin zece câmpuri pe orizontală sau pe verticală, de-a lungul centrului diametrului preparatului.
 - Ca mijloc practic de evaluare a compoziției celulare, evaluarea macroscopică a densității vizuale a preparatului colorat poate fi utilizată pentru a verifica dacă producerea preparatelor este adecvată. În orice caz, nu există înlocuitor pentru evaluarea microscopică primară de către tehnicianul citolog în timpul procesului de screening.
- (8) Cel puțin 75% din componentele celulare sunt mascate de inflamare, sânge, bacterii, mucus sau artefacte ce împiedică interpretarea citologică a lamelei.

Orice observații de screening anormal sau îndoielnic trebuie adresate unui patolog pentru examinare și diagnosticare. Patologul trebuie să noteze orice modificare morfologică celulară importantă din punct de vedere al diagnosticului.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ: RAPORT AL STUDIILOR CLINICE

PRIMUL STUDIU EȘANTION ÎMPĂRȚIT

TriPath Imaging a efectuat o investigație clinică în perspectivă, mascată, pe eșantion împărțit, cu pereche identică în mai multe centre pentru a compara rezultatele de diagnosticare ale lamelelor SurePath produse de sistemul PrepStain cu frotiurile Pap pregătite în mod convențional. Obiectivul studiului a fost de a evalua performanța SurePath în comparație cu frotiul Pap convențional pentru detectarea cancerului de col uterin, a leziunilor precanceroase, a celulelor atipice în diverse populații de pacienți și scenariile de laborator. A fost evaluat, de asemenea, caracterul adecvat pentru ambele preparate.

Respectând recomandările documentului FDA „Points to consider” pentru Dispozitive citologice pentru col uterin¹⁰, fiecare frotiu Pap convențional a fost pregătit mai întâi, apoi proba reziduală rămasă pe dispozitivul de recoltare de tip perie a fost depusă în SurePath Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant).

După transportarea la laborator, fiecare suspensie de celule conservată a fost procesată în conformitate cu protocolul sistemului PrepStain. Lamele SurePath rezultată și lamela corespunzătoare de frotiu Pap convențional au fost triate manual și diagnosticate independent utilizând categorii de diagnosticare compatibile cu Sistemul Bethesda. La fiecare centru, un patolog a evaluat toate lamelele anormale.

În conformitate cu metoda descrisă de Shatzkin¹¹, acest studiu a utilizat un patolog de referință independent la un centru de referință desemnat, care a examinat toate cazurile anormale și discrepante, cazurile de reparare și 5% din cazurile normale de la toate centrele, în mod mascat, pentru a furniza „adevărul” despre diagnosticare pentru fiecare caz în parte.

CARACTERISTICI ALE PACIENTULUI

Vârsta femeilor din cadrul studiului a variat de la 16 la 87 de ani, 772 fiind după menopauză. Din cele 8.807 paciente reprezentate în studiu, 1.059 prezentau un istoric de frotiuri Pap anormale anterioare. Întreaga populație de pacienți studiată a fost formată din următoarele grupe rasiale: caucaziană (44%), neagră (30%), asiatică (12%), hispanică (10%), indigenă americană (3%) și altele (1%).

S-au exclus cazurile cu documente incorecte, pacientele sub 16 ani, pacientele cu histerectomie și probele nesatisfăcătoare și neadecvate din punct de vedere citologic. S-a făcut un efort de a include cât mai multe cazuri de cancer de col uterin și boli pre-canceroase posibile prin accesarea pacientelor cu risc ridicat, triate cu frecvență redusă și recomandate.

Dintr-un total de 10.335 de cazuri, 9.046 au fost acceptate și evaluate în opt centre de studii diferite. Din cele 9.046 de cazuri, 8.807 au îndeplinit cerințele Sistemului Bethesda pentru caracterul adecvat al preparatului și au fost disponibile pentru diagnosticarea completă ale ambelor preparate.

REZULTATELE STUDIULUI

Scopul studiului clinic a fost de a compara performanța lamelelor SurePath produse de sistemul PrepStain cu cea a frotiurilor Pap pregătite în mod convențional. Lamelele pentru ambele tipuri de pregătire au fost clasificate în conformitate cu criteriile Sistemului Bethesda. Protocolul studiului a înclinat în favoarea frotiului Pap convențional, deoarece întotdeauna a fost pregătit mai întâi un frotiu Pap convențional, limitând, astfel, lamela SurePath la materialul rezidual rămas pe dispozitivul de tip perie (partea eșantionului care ar fi fost aruncată în mod normal).¹² Utilizarea specifică a testului SurePath este aplicarea direct în fiolă, prin care toate celulele colectate vor fi disponibile sistemului PrepStain.

Pentru a compara sensibilitățile lamelelor SurePath și ale celor cu frotiu Pap convenționale la citirea manuală, nivelul de anormalitate pentru cazuri a fost determinat de către patologul de referință și comparat cu diagnosticile realizate de centrele de studii. Diagnosticul de referință s-a bazat pe cel mai anormal diagnostic al pregătirii oricăreia dintre lamele, stabilit de către patologul de referință independent. Rezultatul a fost utilizat drept diagnostic de „adevăr” sau valoare de referință pentru compararea rezultatelor centrelor ce utilizează preparate ale lamelelor SurePath cu sistemul PrepStain în raport cu pregătirea frotiului Pap convențional. Ipoteza nulă că sensibilitățile celor două metode de pregătire a lamelelor sunt echivalente a fost testată utilizând testul chi-pătrat McNemar pentru datele pereche.¹³ În acest test statistic, au fost analizate rezultatele discrepante pentru cele două metode de pregătire.

Tabelul 1 prezintă o comparație directă a rezultatelor tuturor centrelor pentru lamelele SurePath față de lamelele convenționale pentru categoriile de tratament de diagnostic în limite normale (WNL), Celule scuamoase de semnificație nedeterminată/Celule glandulare de semnificație nedeterminată (ASCUS/AGUS), Leziuni interepiteliale scuamoase de grad scăzut (LSIL), Leziuni interepiteliale scuamoase de grad ridicat (HSIL) și Cancer (CA).

Tabelul 1 Primul studiu eşanţion împărţit: 8.807 de eşantioane pereche – Comparare rezultate centre – Fără patolog de referinţă

Rezultate pe centru								
Centru nr.	Tip lamelă	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 = Convenţional

Tabelul 2 prezintă o comparare directă a rezultatelor tuturor centrelor pentru metoda de preparare SurePath faţă de pregătirea frotiului Pap convenţional pentru toate categoriile de tratament de diagnostic.

Tabelul 2 Primul studiu eşanţion împărţit: 8.807 de eşantioane pereche Comparare rezultate toate centrele – Fără patolog de referinţă

		Frotiu Pap pregătit în mod convenţional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lamelă SurePath pregătită cu 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

În Tabelul 1 sau Tabelul 2 nu este reflectat niciun rezultat al patologului de referinţă.

Tabelul 3 Primul studiu eşanţion împărţit: Compararea rezultatelor tuturor centrelor pentru cazurile desemnate prin metoda de referinţă ca fiind ASCUS/AGUS – Analiza erorilor discordante

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	113	205	318
	Eroare	180	229	409
		293	434	727

Succes = ASCUS/AGUS
Eroare = WNL şi Reactiv/Corectiv

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 1,62$, $p = 0,2026$
Erori Convenţional: 205
Erori SurePath: 180

Tabelul 3 prezintă rezultatele pentru cazurile identificate de patologul de referinţă ca fiind ASCUS sau AGUS. Această evaluare permite analiza erorilor discordante pentru a evalua sensibilitatea metodelor în designul studiului cu eşanţion împărţit. Erorile includ WNL şi Reactiv/Corectiv. Deoarece valoarea p determinată prin testul McNemar a depăşit 0,05, rezultatele SurePath şi ale frotiului Pap convenţional au fost echivalente.

Tabelul 4 Primul studiu eşanţion împărţit: Compararea rezultatelor tuturor centrelor pentru cazurile desemnate prin metoda de referinţă ca fiind LSIL – Analiza erorilor discordante

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	140	63	203
	Eroare	54	86	140
		194	149	343

Succes = LSIL
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv şi ASCUS/AGUS

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 0,69$, $p = 0,4054$
Erori Convenţional: 63
Erori SurePath: 54

Tabelul 4 prezintă rezultatele pentru cazurile identificate de patologul de referinţă ca fiind LSIL. Erorile includ WNL, Reactiv/Corectiv şi ASCUS/AGUS. Ca şi în cazul ASCUS/AGUS, sensibilitatea celor două metode din studiul cu eşanţion împărţit a fost echivalentă din punct de vedere statistic, cu o valoare p mai mare de 0,05.

Tabelul 5 Primul studiu eşanţion împărţit: Compararea rezultatelor tuturor centrelor pentru cazurile desemnate prin metoda de referinţă ca fiind HSIL+ Analiza erorilor discordante (LSIL nu este eroare)

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	160	28	188
	Eroare	36	38	74
		196	66	262

Succes = HSIL+
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv şi ASCUS/AGUS

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 1,00$, $p = 0,3173$
Erori Convenţional: 28
Erori SurePath: 36

Tabelul 5 prezintă rezultatele pentru cazurile identificate de patologul de referinţă ca fiind HSIL+. În această comparaţie, LSIL nu a fost considerată eroare, ci discrepanţă^{10,14,15}. Eroarea include WNL, Reactiv/Corectiv şi ASCUS/AGUS. Analiza sensibilităţii erorilor discordante a demonstrat echivalenţa statistică a metodelor din studiul cu eşanţion împărţit.

Tabelul 6 Primul studiu eşanţion împărţit: Analiza erorilor discordante pentru cazuri de cancer (HSIL nu este eroare; LSIL este considerat eroare)

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	19	2	21
	Eroare	5	1	6
		24	3	27

Succes = Cancer
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv ASCUS/AGUS şi LSIL

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 1,645$, $p = 0,1980$
Erori Convenţional: 2
Erori SurePath: 5

Tabelul 6 prezintă rezultatele (toate centrele) pentru cazurile apreciate ca fiind cancer prin metoda de referinţă. Erorile includ WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS şi LSIL. Analiza sensibilităţii erorilor discordante a demonstrat echivalenţa statistică a metodelor. Aceste 27 de cazuri de cancer au fost incluse în studiul de reevaluare. Aceste date pot fi găsite în Tabelul 9.

Tabelul 7 Primul studiu eşanţion împărţit: Compararea rezultatelor tuturor centrelor pentru cazurile desemnate prin metoda de referinţă ca fiind HSIL+ Analiza erorilor discordante (LSIL a fost considerată eroare în această analiză)

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	94	33	127
	Eroare	67	68	135
		161	101	262

Succes = (HSIL+)
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS şi LSIL

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 11,56$, $p = 0,0007$
Erori Convenţional: 33
Erori SurePath: 67

Tabelul 7 prezintă rezultatele pentru cazurile identificate de patologul de referință ca fiind HSIL+. Eroarea include WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL. Deși nu este în conformitate cu protocolul original al studiului¹⁰, a fost făcută o comparație statistică a metodelor, unde LSIL a fost considerată eroare de diagnostic față de un caz care a fost determinat ca fiind HSIL+ de către patologul de referință independent. În această comparație statistică a sensibilităților de diagnostic, când LSIL este considerată eroare, spre deosebire de o discrepanță minoră, lamelele SurePath pregătite de sistemul PrepStain nu vor fi echivalente cu frotiul Pap pregătit în mod convențional pentru detectarea anormalității HSIL+ în studiul cu eșantion împărțit.

REEVALUAREA MASCATĂ A CAZURILOR HSIL+

S-a efectuat o nouă evaluare pentru a stabili dacă rezultatele au fost afectate de calitatea preparatului sau de subiectivitatea la interpretare. Pentru a evalua cele 262 de cazuri diagnosticate ca HSIL+ în studiul inițial (Tabelul 7), a fost efectuată o evaluare suplimentară după implementarea unui nou program de instruire pentru profesioniști în citologie, destinat scoaterii în evidență a interpretării consecvente între grupurile de diagnostic ale Sistemului Bethesda. Aceste cazuri HSIL+ au fost re-mascate ca parte a unei reevaluări constând dintr-un total de 2.438 de probe pregătite utilizând același protocol cu eșantion împărțit. Rezultatele centrelor de studiu pentru cele două preparate au fost apoi comparate cu o nouă valoare de referință care a necesitat acordul a cel puțin doi din trei patologici de referință independenți cu privire la cel mai anormal diagnostic citologic.

În procesul de referință pentru reevaluare, ambele preparate de lamele din cazurile discordante (lamele SurePath pregătite cu PrepStain și lamele pregătite în mod convențional) au fost triate din nou de un al doilea tehnician citolog, iar anomaliile nou identificate au fost adăugate la cele din screening-ul inițial. Trei cito-patologi de referință au evaluat toate cazurile discordante utilizând un protocol mascat. Această metodă de referință mai stringentă a redus numărul cazurilor de referință HSIL+ de la 262 în studiul original la 209 în reevaluare. Diferența de 53 de cazuri poate fi explicată astfel: 48 de cazuri au fost diagnosticate prin metoda de referință mai stringentă ca fiind LSIL sau mai puțin severe; caracterul adecvat în 3 cazuri a fost considerat nesatisfăcător la reevaluare; iar cele două cazuri rămase nu au fost disponibile pentru evaluare în studiul de reevaluare mascat.

Tabelul 8 Studiu de reevaluare: Analiza erorilor discordante pentru 209 cazuri originale de HSIL+ reevaluate cu ajutorul criteriilor de referință mai stringente, cu implicarea a trei patologici de referință independenți

		Lamelă pregătită în mod convențional		
		Succes	Eroare	
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	153	26	179
	Eroare	24	6	30
		177	32	209

Succes = HSIL+
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 0,02$, $p = 0,8875$
Erori Convențional: 26
Erori SurePath: 24

Tabelul 8 prezintă rezultatele pentru cazurile identificate de patologul de referință ca fiind HSIL+. Eroarea include WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL. În această comparație LSIL a fost considerată eroare de diagnostic față de un caz care a fost determinat ca fiind HSIL+ de către patologul de referință independent. Compararea sensibilităților de diagnostic a demonstrat echivalența statistică dintre cele două metode.

Tabelul 9 Studiu de reevaluare: Analiza erorilor discordante pentru cazuri de cancer (HSIL nu este eroare; LSIL este considerat eroare)

		Lamelă pregătită în mod convențional		
		Succes	Eroare	
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	32	3	35
	Eroare	3	0	3
		35	3	38

Succes = Cancer
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv ASCUS/AGUS și LSIL

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Erori Convențional: 3
Erori SurePath: 3

Tabelul 9 prezintă rezultatele pentru cazurile apreciate ca fiind cancer prin noua metodă de referință (toate centrele). Erorile includ WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL. O eroare a rezultat din interpretarea LSIL. Toate celelalte erori au presupus interpretarea lamelelor ca ASCUS/AGUS sau WNL. Analiza sensibilității erorilor discordante a demonstrat echivalența statistică a metodelor.

Reevaluarea mascată a conținut 2.097 de cazuri noi care au fost utilizate pentru a re-masca eșantioanele HSIL+ originale. Analiza și comparația preparatelor din aceste cazuri noi sunt prezentate în continuare în Tabelul 10.

Tabelul 10 Studiu de reevaluare: Comparare directă 2.097 rezultate centre – Fără patolog de referință

		Frotiu Pap pregătit în mod convențional						
		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lamelă SurePath pregătită cu 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

Din cele 2.097 de cazuri noi descrise mai sus, 77 au fost diagnosticate drept HSIL+ de patologul de referință. Tabelul 11 prezintă analiza sensibilității pentru cele 77 de cazuri de HSIL+.

Tabelul 11 Studiu de reevaluare: Compararea rezultatelor tuturor centrelor pentru cazurile desemnate prin metoda de referință ca fiind HSIL+ Analiza erorilor discordante (LSIL a fost considerată eroare în această analiză)

		Lamelă pregătită în mod convențional		
		Succes	Eroare	
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	Succes	25	21	46
	Eroare	21	10	31
		46	31	77

Succes = HSIL+
Eroare = WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL

Rezultatele testului McNemar: $X^2_{mc} = 0,00$, $p = 1,0000$
Erori Convențional: 21
Erori SurePath: 21

Analiza erorilor discordante din Tabelul 11 a demonstrat un număr egal de erori HSIL+ pentru ambele metode de pregătire. Eroarea include WNL, Reactiv/Corectiv, ASCUS/AGUS și LSIL. Testul statistic a demonstrat echivalența dintre cele două metode în designul studiului cu eșantion împărțit chiar și când LSIL este considerată eroare față de o valoare de referință de HSIL+.

Tabelul 12 rezumă diagnosticele descriptive ale rezultatelor benigne pentru toate centrele.

Tabelul 12 Primul studiu eșantion împărțit: Rezumat al modificărilor celulare benigne

Diagnostic descriptiv (Nr. de pacienți: 8.807)	Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain		Lamelă pregătită în mod convențional	
	N	%	N	%
Modificări celulare benigne				
*Infecție:				
Specia <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
Specia <i>Actinomyces</i>	6	0,1	2	<0,1
Bacterii (alte)	52	0,6	191	2,2
**Modificări reactive corective	424	4,8	319	3,6

* Pentru categoria de Infecție de mai sus, sunt raportate observații despre agenții infecțioși. Pot fi reprezentate mai multe clase de organisme per caz.

** Modificările reactive corective au inclus modificările reactive asociate cu inflamare, vaginită atrofică, radiații și utilizarea IUD, precum și reparare tipică ce implică celule scuamoase, scuamoase metaplastice sau epiteliale columnare.

Un total de 8.807 cazuri nu au conținut nicio evaluare „nesatisfăcător” din partea niciunui centru de studiu sau a centrului de referință. Alte 239 de eșantioane au fost notate cu „nesatisfăcător” de una sau de ambele centre de studiu sau de centrul de referință pentru unul sau ambele preparate. Din cele 239 de cazuri nesatisfăcătoare, 151 au fost notate doar pentru lamelele convenționale; 70 doar pentru SurePath; iar 18 au fost observate atât pe lamelele convenționale, cât și pe cele SurePath. Toate cazurile nesatisfăcătoare au fost excluse din compararea de diagnostic prin categoriile Sistemului Bethesda, însă au fost adăugate la loc pentru compararea caracterului adecvat al preparatului.

Tabelele de la 13 la 16 prezintă rezultatele caracterului adecvat al preparatului pentru toate centrele.

Tabelul 13 Primul studiu eşantion împărţit: Rezultate caracter adecvat preparat

Caracter adecvat preparat (Nr. de pacienţi: 9.046)	Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain		Lamelă pregătită în mod convenţional	
	N	%	N	%
Satisfăcător	7.607	84,1	6.468	71,5
Satisfăcător, însă limitat de:	1.385	15,3	2.489	27,5
Componentă endocervicală absentă	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefact de uscare în aer	0	0	17	0,2
Frotiu dens	1	< 0,1	0	0
Sânge care împiedică vederea	53	0,6	121	1,3
Inflamaţie care împiedică vederea	102	1,1	310	3,4
Puţine celule epiteliale scuamoase	4	< 0,1	7	0,1
Citoliză	10	0,1	11	0,1
Fără istoric clinic	0	0	0	0
Nespecificat	60	0,7	1.018	11,3
Nesatisfăcător pentru evaluare:	54	0,6	89	1,0
Componentă endocervicală absentă	42	0,5	42	0,5
Artefact de uscare în aer	0	0	0	0
Frotiu dens	0	0	2	< 0,1
Sânge care împiedică vederea	7	0,1	6	0,1
Inflamaţie care împiedică vederea	6	0,1	6	0,1
Puţine celule epiteliale scuamoase	6	0,1	0	0
Citoliză	0	0	1	< 0,1
Fără istoric clinic	0	0	0	0
Nespecificat	37	0,4	32	0,5

Notă: Unii pacienţi au avut mai mult de o subcategorie.

Cazurile nesatisfăcătoare suplimentare au fost determinate de patologicul de referinţă, iar numerele totale de rezultate nesatisfăcătoare sunt reflectate în Tabelul 15. În tabel, SAT = Satisfăcător, SILD = Satisfăcător, însă limitat de (unele condiţii specificate) şi NESAT = Nesatisfăcător.

Tabelul 14 Primul studiu eşantion împărţit: Sumarul rezultatelor caracterului adecvat al preparatului pentru toate centrele studiului clinic

		Lamelă pregătită în mod convenţional			
		SAT	SILD	NESAT	
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SILD	579	772	34	1.385
	NESAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

NESAT: Rezultatul testului McNemar $X^2_{mc} = 9,33$, $p = 0,0023$
SILD: Rezultatul testului McNemar $X^2_{mc} = 546,21$, $p = 0,0000$

Tabelul 14 prezintă rezultatele comparării caracterului adecvat al preparatului pentru ambele metode de pregătire. Au fost semnificativ mai puţine cazuri Nesatisfăcătoare şi SILD cu lamelele SurePath în comparaţie cu lamelele convenţionale.

Tabelul 15 Primul studiu eşantion împărţit: Compararea rezultatelor nesatisfăcătoare din centrele de studiu clinic şi centrul de referinţă.

		Lamelă pregătită în mod convenţional		
		SAT	NESAT	
Lamelă SurePath pregătită cu PrepStain	SAT	8.807	151	8.958
	NESAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Rezultatul testului McNemar $X^2_{mc} = 29,69$, $p = 0,0000$

Tabelul 15 prezintă compararea preparatelor satisfăcătoare şi nesatisfăcătoare din evaluările la centrele de studiu şi centrul de referinţă. Lamelele SurePath au prezentat o reducere semnificativă din punct de vedere statistic a cazurilor nesatisfăcătoare în comparaţie cu lamelele convenţionale.

Tabelul 16 Rezultate caracter adecvat al preparatului pe centru – Rate SILD pentru Fără componentă endocervicală (CEC)

Unitate	Cazuri	SILD SurePath fără CEC N (%)	SILD Convenţional fără 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)
Toate centrele	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

Detectarea celulelor endocervicale (Tabelul 16) a variat la diferite centre de studiu. În general, a existat o diferenţă de 1,8% la detectarea celulelor endocervicale între metodele cu frotiu Pap convenţional şi SurePath, asemănătoare cu studiile anterioare ce utilizau metodologia cu eşantion împărţit.^{16,17}

Lamelele SurePath produse de sistemul PrepStain au prezentat rezultate similare cu frotiurile Pap convenţionale în comparaţiile cu eşantion împărţit pentru o varietate de populaţii de pacienţi şi scenarii de laborator. În plus, au fost semnificativ mai puţine cazuri Nesatisfăcătoare şi SILD cu lamelele SurePath în comparaţie cu frotiurile Pap convenţionale. Astfel, lamela SurePath poate fi utilizată ca înlocuitor al frotiului Pap convenţional la detectarea celulelor atipice, a leziunilor precanceroase, a cancerului de col uterin şi a tuturor celorlalte categorii citologice, conform definiţiei din Sistemul Bethesda.

EVALUAREA PREGĂTIRII LAMELEI SUREPATH UTILIZÂND METODELE PREPMATE ŞI MANUALĂ

TriPath Imaging a efectuat un studiu clinic în perspectivă, multi-centru, pentru a evalua două modificări ale procedurii aprobate de FDA pentru pregătirea lamelelor SurePath. Modificările aduse procesului aprobat pentru pregătirea lamelelor SurePath au fost următoarele:

- Adăugarea accesoriului PrepMate (metoda PrepMate), care automatizează etapele manuale iniţiale ale procesului de laborator PrepStain. PrepMate amestecă automat şi scoate proba din SurePath Preservative Vials (Fiole de conservant) şi distribuie proba pe PrepStain Density Reagent (Reactiv de densitate) într-o eprubetă.
- Adăugarea metodei Manuale, în care, în loc să fie utilizat instrumentul PrepStain pentru colorarea suspensiei de celule şi a lamelei, suspensia de celule este distribuită manual pe lamelă şi colorată de un tehnician de laborator.

Acest studiu a evaluat peste 400 de cazuri într-o comparare mascată a celor două metode alternative ale procedurii aprobate în prezent pentru pregătirea lamelelor SurePath. Comparaţia s-a bazat pe criterii morfologice şi de calitate aplicate lamelelor pregătite prin fiecare metodă.

Obiectivele principale ale studiului au fost:

- Să evalueze aspectele morfologice şi de calitate ale lamelelor SurePath pregătite cu metoda PrepMate în comparaţie cu lamelele pregătite în conformitate cu metoda aprobată de utilizare a sistemului PrepStain (denumită metoda PrepStain).
- Să evalueze aspectele morfologice şi de calitate ale lamelelor SurePath pregătite cu metoda Manuală în comparaţie cu lamelele pregătite în conformitate cu metoda PrepStain aprobată.

Obiectivele suplimentare ale studiului au fost:

- Să determine dacă nivelul acordului dintre metoda PrepStain aprobată şi metoda PrepMate este mai mare decât s-ar aştepta numai prin coincidenţă.
- Să determine dacă nivelul acordului dintre metoda PrepStain aprobată şi metoda Manuală este mai mare decât s-ar aştepta numai prin coincidenţă.
- Să evalueze caracterul adecvat al probei în conformitate cu standardele sistemului PrepStain pentru pregătirea lamelelor SurePath utilizând metoda PrepMate.
- Să evalueze caracterul adecvat al probei în conformitate cu standardele sistemului PrepStain pentru pregătirea lamelelor SurePath utilizând metoda Manuală.

ACCESORIU PREPMATE

PrepMate este un accesoriu al sistemului PrepStain care automatizează două etape manuale – amestecarea şi distribuirea eşantionului – ale procesului de laborator PrepStain. PrepMate amestecă bine, scoate cu acurateţe proba din SurePath Preservative Vials (Fiole de conservant) şi distribuie proba pe PrepStain Density Reagent (Reactiv de densitate) într-o eprubetă. Un rack pentru probe încărcat în prealabil cu fiole de probă, pipete cu seringă şi eprubete (conţinând lichid de densitate) este plasat pe tava instrumentului. Rackul conţine până la douăsprezece fiole, tuburi şi pipete cu seringă, dispuse pe trei rânduri de câte patru fiecare. Fiolele, seringile cu pipete şi tuburile sunt de unică folosinţă. Acestea trebuie utilizate o singură dată pentru a elimina posibilitatea contaminării probei.

METODĂ MANUALĂ

Metoda Manuală utilizează o procedură manuală pentru a distribui suspensia de celule pe lamele și pentru a colora preparatul. Colectarea și procesarea probei ginecologice sunt identice atât pentru metoda Manuală, cât și pentru metoda PrepStain aprobată, până la punctul în care se utilizează instrumentul PrepStain.

În metoda PrepStain, tabletele de celule centrifugate sunt plasate direct pe instrumentul PrepStain pentru procesare automată, pentru a produce lamele SurePath colorate.

În metoda Manuală se adaugă apă deionizată la tableta de celule centrifugată, urmată de agitare pentru a suspenda din nou și randomiza eșantionul. Eșantionul este transferat într-o cameră de decantare montată pe o lamelă SurePath PreCoat. După decantarea eșantionului pe lamelă, eșantionul este colorat printr-o procedură de colorare Papanicolaou pentru un lot întreg.

RESPONSABILITATEA PENTRU LAMELE

Tabelul 17 prezintă responsabilitatea pentru lamele cu privire la lamelele din studiul clinic. Este important să se rețină că setul de studiu a constat din **trei lamele per caz**.

Tabelul 17 Responsabilitatea pentru lamele

	Cazuri	Lamele
Număr total recrutat în studiu	471	1.413
Număr total exclus de la analiză	–68	–204
Documentație incompletă	–39	–117
Lamele pregătite incorect	–24	–72
Alte motive de excludere *	–5	–15
Număr total inclus în analiză	403	1.209

* Eșantioane lipsă, numere de pacient duplicate etc.

DATE DEMOGRAFICE DESPRE POPULAȚIE

Tabelul 18 listează datele demografice privind vârsta pacienților pentru toate cazurile incluse în populația studiului.

Tabelul 18 Date demografice despre pacient

Vârstă	Număr de cazuri
Cel mult 19 ani	3
20 - 29	73
30 - 39	158
40 - 49	105
50 +	64
Total	403

Tabelul 19 listează informațiile clinice actuale, iar Tabelul 20 listează istoricul clinic pentru toate cazurile incluse în populația studiului. Rețineți că a fost permisă selectarea mai multor elemente, așa că este posibil ca numărul total de cazuri să nu corespundă numărului total de cazuri din populația studiului.

Tabelul 19 Informații clinice actuale

Informații clinice	Număr de cazuri
Ciclic	241
Ciclu neregulat	69
Histerectomie	16
Însărcinată	9
După avort	0
După naștere	9
După menopauză	58
La menopauză	1
Imunitate scăzută	0
Prezentare GYN anormală	0
Scurgeri vaginale	137
Terapie de înlocuire estrogen	19
IUD	2
Contraceptive orale/implant	20
Fără contracepție	181
Informații indisponibile	22

Tabelul 20 Istoric clinic

Istoric	Număr de cazuri
Citologie anormală anterioară	13
Istoric de sângerări anormale	36
Biopsie	3
Istoric de cancer	1
Chemoterapie	0
Radiații	0
Colposcopie	9
HIV/SIDA	0
HPV (Neg)	0
Herpes	1
Istoric de LBT*	1
Istoric de BIP**	57
Niciunul notat	363

* Legare bilaterală a trompelor uterine

** Boală inflamatorie pelvină

REZULTATELE STUDIULUI

Scopul acestui studiu a fost acela de a stabili că lamelele SurePath pregătite cu procedurile metodei PrepMate și ale metodei Manuale sunt mai bune, prin comparație cu cele pregătite utilizând metoda PrepStain aprobată. Datele clinice au demonstrat că lamelele pregătite cu metodele PrepMate și Manuală sunt comparabile ca morfologie și calitate cu cele pregătite cu metoda PrepStain aprobată.

Datele clinice au mai arătat, de asemenea, că performanța de diagnosticare este aceeași pentru metodele PrepMate și Manuală în comparație cu metoda PrepStain aprobată. În plus, caracterul adecvat al lamelor pregătite cu metodele PrepMate și Manuală nu diferă de cel al lamelor pregătite cu metoda PrepStain aprobată. Aceste rezultate susțin compatibilitatea metodelor PrepMate și Manuală cu metoda PrepStain aprobată.

MORFOLOGIA ȘI CALITATEA PROBEI

Tabelul 21 prezintă rezultatele pentru obiectivele principale. Caracterul acceptabil al lamelor pregătite prin fiecare metodă a fost evaluat în conformitate cu criteriile de morfologie și calitate prezentate în tabel. Pentru fiecare criteriu, populația de lamele acceptabile a fost calculată împreună cu intervalul de încredere exact de 95% corespunzător.

Tabelul 21 Compararea ratelor și a intervalelor de încredere (II) pentru criteriile de acceptabilitate

		Metodă pregătire lamele					
		PrepStain		PrepMate		Metodă manuală	
		Rată (n/N)	II exact 95%	Rată (n/N)	II exact 95%	Rată (n/N)	II exact 95%
Criterii de acceptabilitate	Colorare	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Claritate	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
	Citologie	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Grupare	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Compoziți e celulară	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

Ratele de acceptabilitate ale metodelor PrepMate și Manuală sunt întotdeauna aproape egale sau mai mari decât cele ale metodei PrepStain. În plus, intervalele de încredere exacte de 95% pentru metodele PrepMate și Manuală sunt în mod substanțial mai extinse decât cele pentru metoda PrepStain aprobată, pentru fiecare criteriu. Aceasta presupune că lamelele pregătite cu metodele PrepMate și Manuală sunt de morfologie și calitate comparabile cu cele pregătite cu metoda PrepStain aprobată. Prin urmare, calitatea preparatelor este aceeași pentru metoda aprobată și cele două metode de testare.

ACORDUL CU PRIVIRE LA DIAGNOSTIC

Această analiză compară diagnosticile pe lamelele pregătite cu fiecare metodă. Deoarece aceste date sunt derivate din eșantioane împărțite, matricele de diagnostic prezentate în Tabelul 22 și Tabelul 23 se bazează pe eșantioane împerecheate, fiecare din metodele test de pregătire a lamelor (metoda PrepMate și cea Manuală) fiind comparată cu metoda PrepStain aprobată. În mod ideal, diagnosticul obținut din lamelele pregătite cu cele două metode va fi același. Acesta este reprezentat de numărul de diagnostice identice, ce apare pe diagonala principală a fiecărui tabel.

Prima măsură a acordului este raportul dintre lamelele de pe diagonala principală și intervalele de încredere exacte de 95% corespunzătoare. A doua măsură a acordului este obținută din statistica kappa, care a fost calculată pentru fiecare comparație și testată. Testul determină dacă nivelul acordului dintre cele două metode este mai mare decât s-ar aștepta exclusiv prin coincidență. Deoarece observațiile sunt ordonate, este mai important să avem observații care se află pe sau lângă diagonala principală. Statistica kappa ponderată oferă mai multă pondere observațiilor care se află pe sau lângă diagonala principală din table.

COMPARAREA METODEI PREPSTAIN APROBATĂ ȘI A METODEI PREPMATE
În Tabelul 22, numărul de lamele de pe diagonala principală este de 367 (2+334+8+6+5+11+1), iar raportul dintre lamelele de pe diagonala principală este de 0,9107 (367/403) cu limite de încredere exacte de 95% între 0,8785 și 0,9366.

Dacă lamelele nesatisfăcătoare sunt excluse din tabel prin ștergerea primului rând și a primei coloane, rămân 397 de lamele. Proporția dintre lamelele de pe diagonala principală este de 0,9194 (365/397) cu limite de încredere de 95% între 0,8881 și 0,9442.

Rezultatele prezentate în Tabelul 22 indică faptul că metoda PrepStain aprobată și metoda PrepMate au o proporție mare de lamele cu acord de diagnostic, după cum o indică proporția lamelilor de pe diagonala principală din tabel. Mai mult, analiza kappa ponderată indică faptul că acordul a fost mult mai mare decât ar putea fi atribuit întâmplării.

Tabelul 22 Tabelare încrucișată a diagnosticilor cu metodele PrepStain și PrepMate

		Diagnosticare cu metoda PrepStain									
		Nesat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnosticare cu metoda PrepMate	Nesat	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

COMPARAREA METODEI PREPSTAIN APROBATĂ ȘI A METODEI MANUALE
În Tabelul 23, numărul de lamele de pe diagonala principală este de 353 (3+315+6+10+7+11+1). Proporția de lamele pe diagonala principală este de 0,8759 (353/403). Limitele de încredere binomiale exacte de 95% pentru această proporție sunt între 0,8397 și 0,9065.

Dacă lamelele nesatisfăcătoare sunt excluse din tabel prin ștergerea primului rând și a primei coloane, rămân 398 de lamele. Proporția dintre lamelele de pe diagonala principală este de 0,8794 (350/398) cu limite de încredere de 95% între 0,8433 și 0,9097. Rezultatele prezentate în Tabelul 23 indică faptul că metoda PrepStain aprobată și metoda Manuală au o proporție mare de lamele cu acord de diagnostic, după cum o indică proporția lamelilor de pe diagonala principală din tabel. Mai mult, analiza kappa ponderată indică faptul că acordul a fost mult mai mare decât ar putea fi atribuit întâmplării. Prin urmare, performanța de diagnosticare este aceeași pentru metoda aprobată și cele două metode de testare.

Tabelul 23 Tabelare încrucișată a diagnosticilor cu metodele PrepStain și Manuală

		Diagnosticare cu metoda PrepStain									
		Nesat	WNL	BCC-RR	Atypia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnosticare cu metoda Manuală	Nesat	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

CARACTERUL ADECVAT AL LAMELELOR

Caracterul adecvat al lamelilor a fost evaluat pentru fiecare dintre metodele de pregătire. Datele au fost analizate utilizând un test McNemar cu două părți.¹⁸

Tabelul 24 prezintă rezultatele privind caracterul adecvat la compararea metodei PrepStain aprobate cu metoda PrepMate.

Tabelul 24 Rezultate caracter adecvat pentru lamelele metodelor PrepMate și PrepStain

		PrepStain		
		Rezultat metodă		
		SAT sau SILD	NESAT	
Rezultat metodă PrepMate	SAT sau SILD	398	3	401
	NESAT	0	2	2
		398	5	403

Tabelul 25 prezintă rezultatele privind caracterul adecvat la compararea metodei PrepStain aprobate cu metoda Manuală.

Tabelul 25 Rezultate caracter adecvat pentru lamelele metodelor Manuală și PrepStain

		PrepStain		
		Rezultat metodă		
		SAT sau SILD	NESAT	
Rezultat metodă Manuală	SAT sau SILD	398	2	400
	NESAT	0	3	3
		398	5	403

Aceste două comparații demonstrează faptul că metodele PrepMate și Manuală nu diferă de metoda PrepStain aprobată din punct de vedere al caracterului adecvat al lamelilor.

STUDIUL DIRECT ÎN FIOLĂ

În urma aprobării inițiale a FDA pentru sistemul PrepStain, TriPath Imaging a efectuat un studiu de dimensiuni mari, multi-centru, pentru sistemul PrepStain utilizat conform specificațiilor cu probe direct în fiolă. Studiile clinice anterioare au utilizat o metodă a eșantionului împărțit, prin care eșantionul era mai întâi utilizat pentru a crea o lamelă cu frotiu Pap convențional, iar eșantionul rămas era introdus în lichidul de colectare SurePath și procesat de sistemul PrepStain pentru a crea o lamelă SurePath. Este bine cunoscut faptul că designurile cu eșantion împărțit subestimează performanța reală a testului care este pregătit din material celular rezidual¹².

Acest studiu a comparat performanța lamelilor SurePath produse din probe direct în fiolă cu cea a frotiurilor Pap convenționale. Rezultatele obținute cu SurePath au fost comparate cu rezultatele obținute dintr-un grup istoric de frotiuri Pap convenționale. În mod specific, acest studiu a evaluat dacă lamelele SurePath au îmbunătățit detectarea leziunilor interepiteliale scuamoase de grad ridicat (HSIL), adenocarcinomul in-situ și cancerul (HSIL+). Toate datele de biopsie disponibile au fost colectate pentru ambele populații de lamele.

Populația SurePath a constatat din 58.580 de lamele colectate în perspectivă de la 57 de clinici care au convertit aproape 100% din colectarea frotiului Pap convențional la colectarea de probe SurePath. Probele colectate la aceste clinici au fost trimise la trei centre clinice pentru procesare.

Populația convențională a constatat din 58.988 de lamele din aceleași clinici ca și lamelele SurePath. Populația istorică a fost colectată începând cu cele mai recente lamele înainte ca aceste clinici să treacă la SurePath mergând înapoi în timp până când populația de lamele convenționale și cea de lamele SurePath de la fiecare centru clinic erau aproximativ egale ca număr.

Rezultatele acestui studiu au demonstrat o rată de detectare de 405/58.580 pentru lamelele SurePath, în comparație cu 248/58.988 pentru lamelele convenționale, conducând la rate de detectare de 0,691% și, respectiv, 0,420% (consultați Tabelul 26). Pentru aceste centre clinice și aceste populații de studiu, aceasta indică o creștere de 64,4% (p<0,00001) a detectării leziunilor HSIL+ pentru lamelele SurePath.

Tabelul 26 Compararea ratelor de detectare pe centru

Unitate	Convențional			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+

Unitate	Convențional			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+

Unitate	Convențional			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

Nesatisfăcător

Unitate	Convențional			SurePath		
	Total	NESAT+	Procent (%)	Total	NESAT+	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

Notă: Sunt de așteptat variații ale performanței de la un centru la altul. Fiecare laborator trebuie să monitorizeze cu atenție calitatea activităților proprii

PROCEDURĂ

Procedurile complete pentru pregătirea lamelelor SurePath sunt furnizate în Manualul operatorului pentru sistemul PrepStain.

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

Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Email: tripathtechsupport@bd.com

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



DENUMIREA ȘI SEDIUL COMPANIEI

TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 SUA



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare
Ireland



©2011 TriPath Imaging, Inc. Toate drepturile rezervate

BD, sigla BD și BD ProbeTec sunt mărci comerciale ale Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD