

## MANUAL METHOD

### A cell preparation process for gynecologic applications

REF 490529

REF 490635

#### INTENDED USE

##### For In Vitro Diagnostic Use

The Manual Method is a method for producing liquid-based cell preparations (LBPs). The Manual Method is intended as a replacement for the conventional Pap smear preparation method for use in cervical cancer screening.

SUREPATH® Preservative Fluid is an appropriate collection and transportation medium for gynecologic specimens tested with BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> and *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> 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

Cervical cytology screening by the Papanicolaou (Pap) method involves the microscopic examination of cell samples that have been taken primarily from the ecto- and endocervix, smeared on glass slides and stained using the Pap procedure.<sup>1,2,3</sup> Cervical cytology screening with the Pap smear has decreased the mortality rates of invasive cervical carcinoma by 50 to 70 percent.<sup>4</sup> Because cervical cytology is a screening test, abnormal findings must be confirmed histologically.

Specimen collection and preparation are extremely important to accuracy in Pap smears. Randomization or uniform sub-sampling is essential for complete accuracy. The conventional Pap smear technique does not provide for mixing of the sample prior to slide preparation. Due to the entanglement of cells in mucus on the sampling device, the cells actually transferred to the slide may not be representative of the total population collected. The cells are transferred to the slide in relation to where they happen to be on the sampling device. Many cells are left on the device.<sup>5</sup>

The non-homogeneity of a typical cervical sample can make conventional smears difficult to prepare, screen and interpret. Large areas of the conventional slide are often covered with debris, inflammatory cells and sheets of epithelial cells that can obscure valuable diagnostic material. In addition, if the smear is not fixed immediately after preparation, cellular morphology can be distorted as the smear dries (air-drying artifact).

The Manual Method is a method for converting a liquid suspension of a cervical sample into a consistently stained, homogeneous SUREPATH® slide while maintaining diagnostic cell clusters.<sup>6,7,8,9</sup> The process includes cell preservation, randomization, enrichment of diagnostic material, pipetting, and sedimentation to create a cellular preparation. The result of the preparation process is a SUREPATH® slide for use in routine cytology screening and categorization as defined by the Bethesda System.<sup>10</sup>

#### PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

The Manual Method is a procedure for the preparation of LBPs of cervical cells. Gynecologic specimens are collected by qualified medical personnel using broom-like devices (e.g. Cervex-Brush®) or combination plastic spatula and endocervical brush devices (e.g. Cytobrush® Plus GT and Pap-Perfect® spatula, MedScand (USA), Inc.) with detachable heads. The head of the brush is removed from the handle and placed into a vial of SUREPATH® Preservative Fluid. The vial is capped, labeled and sent with appropriate paperwork to the laboratory for processing.

In the laboratory, the preserved sample is mixed by vortexing, and transferred into a tube containing PREPSTAIN® Density Reagent. An enrichment step, consisting of centrifugal sedimentation through PREPSTAIN® Density Reagent, partially removes non-diagnostic debris and excess inflammatory cells from the sample. After centrifugation, the tube containing the enriched cellular component is reconstituted with D.I. water and the cellular material is re-suspended with a pipettor, using an aspirate / dispense sequence. The sample material is then transferred to a PREPSTAIN® Settling Chamber mounted on a SUREPATH® PreCoat slide. Gravity sedimentation occurs during a short incubation. Excess material is decanted. The SUREPATH® PreCoat slide is stained, cleared and coverslipped, with the cells presented in a circle, 13 mm in diameter. The SUREPATH® Slide is examined by trained cytotechnologists and pathologists in conjunction with other relevant patient information.

#### LIMITATIONS

- Gynecologic specimens for preparation using the Manual Method should be collected using a broom-type device according to the standard collection procedure provided by the manufacturer.
- The production and evaluation of TRIPATH Imaging®, Inc liquid-based preparations should be performed only by personnel who have been trained by TRIPATH or others authorized by TRIPATH to provide such training.
- Proper performance of the device requires the use of only those supplies supported by TRIPATH Imaging®, Inc, or recommended by TRIPATH Imaging®, Inc. Used supplies should be disposed of properly in accordance with institutional and governmental regulations.
- All supplies are 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.

#### WARNINGS

- SUREPATH® Preservative Fluid contains a dilute solution of denatured ethanol and is not intended for human consumption. The mixture contains small amounts of methanol and isopropanol which can be harmful and cause blindness if ingested.
- PREPSTAIN® Density Reagent contains sodium azide. 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 the Manual Guide issued by the Centers for Disease Control<sup>11</sup>.

#### PRECAUTIONS

- It is expected that good laboratory practices will be followed and that all procedures for use of the Manual Method will be strictly observed.
- All reagents are stable until stated expiration dates, provided recommended storage conditions are followed and maintained.
- Microbial contamination of reagents may give incorrect results.
- Substitution of other than SUREPATH® PreCoat slides may result in less than optimal results.
- Avoid splashing or generating aerosols. Use appropriate hand, eye and clothing protection.
- SUREPATH® Preservative Fluid is bactericidal and has been tested against: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis*, and *Aspergillus niger*. However, universal precautions for safe handling of biological fluids should be practiced at all times.

#### 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

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. For instructions on processing the aliquot using the BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> and GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays, refer to the assay Package Inserts provided by the manufacturer.

## MATERIALS REQUIRED

### Materials Provided

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial
- PREPSTAIN® Density Reagent
- PREPSTAIN® Settling Chambers
- SUREPATH® PreCoat slides
- Centrifuge Tubes
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes
- Aspirator Tips

### Materials Required But Not Provided

- Centrifuge
- Slide Racks
- Easy Aspirator (optional)
- Processing Tray (optional)
- Broom type sampling device or endocervical brush/plastic spatula with detachable head(s)
- Vortex Mixer
- Precision Pipettes with Disposable Tips
- Deionized Water (pH 7.5 to 8.5)
- Isopropanol and Reagent Grade Alcohol
- Staining Reagents
- Clearing Agent, Mounting Media, Coverslips

## STORAGE

- SUREPATH® Preservative Fluid without cytologic samples may be stored at room temperature (15° to 30° C) for up to

36 months from date of manufacture.

- 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<sup>x</sup> and GC Q<sup>x</sup> 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<sup>x</sup> Amplified DNA Assays.

## PROCEDURES

1. After the sample is collected using a Rovers Cervex-Brush® or equivalent sampling device, the brush head is rinsed directly into the fluid, removed from the handle and dropped into a SUREPATH® Preservative Fluid vial. The vial is then tightly capped, labeled, and sent to the laboratory.
2. When sample vials have been accessioned into the lab, place each vial into the processing tray with a labeled centrifuge tube pre-filled with 4 ml of PREPSTAIN® Density Reagent and a labeled SUREPATH® PreCoat slide. PREPSTAIN® Density Reagent must be added to the tube before the sample is added or performance will be reduced.
3. Vigorously vortex each sample vial for 10 – 20 seconds. (Sufficient volume is available in the SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial to allow removal of up to 0.5 mL of homogenous mixture of cells and fluid for ancillary testing, while still allowing sufficient volume for Pap testing. The aliquoting may be performed after this vortexing step in the SUREPATH® LBC Test process.)
  - Use the PREPMATE™ Automated Accessory and PREPSTAIN® Syringing Pipettes to transfer the sample. See the PREPMATE™ Operators Manual for instructions. **Or**
  - Remove vial cap. Hold a SUREPATH® Preservative Vial in one hand, gently push a PREPSTAIN® Syringing Pipettes into the vial until it stops, pointing the end of the PREPSTAIN® Syringing Pipettes away from your face. Invert the vial / PREPSTAIN® Syringing Pipettes assembly into the appropriately numbered PREPSTAIN® Density Reagent tube. Allow all of the sample solution to completely drain from the PREPSTAIN® Syringing Pipettes before proceeding. **Or**
  - Remove vial cap. Slowly pour approximately 8 ml of specimen onto PREPSTAIN® Density Reagent.
4. Place the tubes into the centrifuge racks according to the placement sequence diagram in the Procedure Manual (each tube rack has a capacity of 12 tubes). Placement sequence is critical and must be balanced.
5. Balance the centrifuge tubes by adding Preservative Fluid if necessary, and centrifuge specimens for 2 minutes at 200 x g.
6. If the Easy Aspirator is used, turn on the Easy Aspirator

system and adjust pressure to 9 ± 2 in Hg. Place clean tips onto the Easy Aspirator aspirator.

7. Remove centrifuge tube racks from the centrifuge. Slowly lower the Easy Aspirator tips (or disposable transfer pipettes) into the centrifuge tubes to aspirate supernatant. The aspirate device should touch the top of the tubes at completion. Rinse Aspirator Tips between samples with water.
8. Centrifuge the tubes for 10 minutes at 800 x g to concentrate the diagnostic component into a cell pellet at the bottom of the tube.
9. Remove the tube rack from the centrifuge. Gently and quickly decant into the sink. Keeping rack inverted, blot the tubes carefully on absorbent paper making sure that the cell pellet stays in the tube.
10. Label a SUREPATH® PreCoat slide with each specimen number, being careful not to touch the surface of the SUREPATH® PreCoat slide. Place slides into Slide Rack and lock a PREPSTAIN® Settling Chamber onto each slide. The position of each numbered SUREPATH® PreCoat slide on the platter must match to the position of the corresponding centrifuge tube.
11. Add 4 ml of Deionized Water (pH 7.5-8.0) to each specimen tube and mix well by vortexing.
12. Working with one sample tube at a time, vortex tube and immediately transfer 800 µl of cell suspension into the correspondingly numbered PREPSTAIN® Settling Chamber/SUREPATH® PreCoat slide. Repeat for each sample.
13. Allow 10 minutes for full sedimentation to occur. After the sedimentation, gently invert the slide platter(s) over the sink to decant the remaining fluid and blot the excess liquid on absorbent paper.
14. Rinse each PREPSTAIN® Settling Chamber with 500 µl of denatured ethanol and decant. Repeat alcohol rinse and decant the remaining fluid and blot the excess liquid on absorbent paper, allowing them to remain inverted for at least 1 minute.
15. Remove the PREPSTAIN® Settling Chamber.
16. Stain and coverslip SUREPATH® Slides.

## RESULTS AND INTERPRETATION

- All diagnostic criteria currently utilized in cytology laboratories for conventional Pap smears are applicable to TRIPATH Imaging®, Inc. liquid-based preparations.
- Any abnormal or questionable screening observations should be referred to a pathologist for review and diagnosis. Any cellular morphologic changes are significant and should be noted.

## BIBLIOGRAPHY

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



TriPath Imaging, Inc.

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA



Benex Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



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.

BD, BD Logo, and BD ProbeTec are trademarks of  
Becton, Dickerson and Company. © 2011 BD

## MANUELLE METHODE

### Ein Verfahren zum Präparieren von Zellen für gynäkologische Anwendungen

REF 490529 REF 490635

#### VERWENDUNGSZWECK

##### Zur In-vitro-Diagnostik

Die manuelle Methode ist eine Methode zur Herstellung von Zellpräparationen auf Flüssigkeitsbasis (LBP). Die manuelle Methode wird als Ersatz für die herkömmliche Pap-Abstrich-Präparationsmethode beim Screening von Zervikalkarzinomen eingesetzt.

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<sup>+</sup> und *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> getestet wurden. Anweisungen zur Verwendung von 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

Das Zytologie-Screening der Zervix mit der Papanicolaou (Pap)-Methode umfasst die mikroskopische Untersuchung von Zellproben, die zuvor der Ekto- und Endozervix entnommen, auf einen Objektträger aus Glas ausgestrichen und anhand des Pap-Verfahrens gefärbt wurden.<sup>1,2,3</sup> Das Zytologie-Screening der Zervix mit dem Pap-Abstrich hat die Mortalitätsrate von invasiven Zervikalkarzinomen um 50 bis 70 Prozent gesenkt.<sup>4</sup> Da es sich bei der Zervix-Zytologie um einen Screening-Test handelt, müssen abnormale Befunde histologisch abgeklärt werden.

Beim Pap-Abstrich ist die Genauigkeit bei der Probenentnahme und -präparation von äußerster Wichtigkeit. Randomisierung bzw. einheitliche Probenteilung sind für eine vollständige Genauigkeit unerlässlich. Die herkömmliche Pap-Abstrich-Methode ermöglicht kein Durchmischen der Probe vor der Präparation des Objektträgers. Da die Zellen auf dem Probenentnahmegesäß mit Schleim vermischt sind, sind die auf den Objektträger übertragenen Zellen möglicherweise nicht repräsentativ für die insgesamt entnommene Population. Die Zellen werden in Bezug auf ihre Position auf dem Probenentnahmegesäß auf den Objektträger ausgestrichen. Viele Zellen werden dabei auf dem Gesäß zurückgelassen.<sup>5</sup>

Die fehlende Homogenität einer typischen Zervikalprobe kann die Präparation, das Screening und die Interpretation eines herkömmlichen Abstrichs erschweren. Große Bereiche des konventionell präparierten Objektträgers sind oft mit Geweberesten, entzündlichen Zellen und Schichten von Epithelzellen bedeckt, die das zur Diagnose notwendige Material verdecken können. Wird der Abstrich nach der Präparation nicht sofort fixiert, kann außerdem die Zellmorphologie gestört werden, da der Abstrich austrocknet (Lufttrocknungsartefakte).

Die manuelle Methode ist eine Methode zur Umwandlung einer flüssigen Suspension einer Zervikalprobe in einen regelmäßig gefärbten, homogenen SUREPATH®-Objektträger, während

diagnostische Zellgruppen erhalten bleiben.<sup>6,7,8,9</sup> Zu diesem Verfahren gehören Zellkonservierung, Randomisierung, Anreicherung des Diagnosematerials, Pipettieren und Sedimentieren, um ein Zellpräparat zu erhalten. Das Ergebnis des Präparationsverfahrens ist ein SUREPATH®-Objektträger für routinemäßiges Zytologie-Screening und Zytologiekategorisierung, wie sie durch das Bethesda System<sup>10</sup> definiert werden.

#### VERFAHRENSGRUNDLAGEN

Die manuelle Methode ist ein Verfahren für die Präparation von LBPs von Zervikalzellen. Gynäkologische Proben werden von qualifiziertem medizinischem Personal mit einer Abstrichbürste (z. B. Cervex Brush®) oder einer Kombination aus endozervikaler Abstrichbürste/Kunststoffspatel (z. B. Cytobrush® Plus GT und Pap Perfect® Spatula, MedScand (USA) Inc.) mit abnehmbaren Köpfen entnommen. Der Bürstenkopf wird vom Griff getrennt und in eine kleine Flasche mit SUREPATH® Preservative Fluid (Konservierungslösung) gelegt. Das Gefäß wird verschlossen, etikettiert und mit den entsprechenden Unterlagen zur Bearbeitung an das Labor versandt.

Im Labor wird die konservierte Probe durch Vortexieren vermischt und in ein Röhrchen mit PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) transferiert. Ein Anreicherungsschritt bestehend aus Zentrifugalsedimentierung mit dem PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) entfernt nicht-diagnostische Gewebereste und überschüssige Entzündungszellen teilweise von der Probe. Nach der Zentrifugation wird das Röhrchen mit den angereicherten Zellbestandteilen mit entionisiertem Wasser rekonstituiert, und das Zellmaterial wird mit einem Pipettierer durch abwechselndes Aspirieren und Dispensieren resuspendiert. Anschließend wird das Probenmaterial in ein PREPSTAIN® Settling Chamber (Absetzkammer) übertragen, die auf einem SUREPATH® PreCoat (beschichteten) Objektträger angebracht ist. Während einer kurzen Inkubationszeit kommt es zur Schwerkräftsedimentierung. Das überschüssige Material wird abgossen. Der SUREPATH® PreCoat (beschichtete) Objektträger, auf dem die Zellen in einem Kreis von 13 mm Durchmesser angeordnet sind, wird gefärbt, gereinigt und mit einem Deckglas versehen. Der SUREPATH®-Objektträger wird von ausgebildeten Zytotechnikern und Pathologen, die Zugang zu anderen wichtigen Informationen der Patientin haben, untersucht.

#### EINSCHRÄNKUNGEN

- Die für die Präparation mit der manuellen Methode vorgesehenen gynäkologischen Proben sollten mit einer Abstrichbürste entnommen werden. Dabei ist das vom Hersteller vorgeschriebene Verfahren zur Standardprobenentnahme zu befolgen.
- Die Herstellung und Auswertung der TRIPATH Imaging, Inc Präparate auf Flüssigkeitsbasis dürfen nur durch von TRIPATH autorisiertem oder ausgebildetem Personal ausgeführt werden.
- Zur korrekten Funktion des Geräts darf nur von TRIPATH Imaging®, Inc unterstütztes oder von TRIPATH Imaging®, Inc empfohlenes Verbrauchsmaterial verwendet werden. Gebrauchtes Verbrauchsmaterial muss vorschriftsgemäß entsorgt werden.
- Alle Verbrauchsmaterialien sind für den Einmalgebrauch

konzipiert 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 den SUREPATH® LBC Test process (LBC-Testverfahren) erforderlich.

#### WARNHINWEISE

- Die SUREPATH® Preservative Fluid (Konservierungslösung) enthält eine verdünnte denaturierte Ethanollösung und darf nicht konsumiert werden. Die Mischung enthält kleine Mengen von Methanol und Isopropanol, die schädlich sein und zu Blindheit führen können, wenn sie eingenommen werden.
- Das PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) enthält Natriumazid. 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 Informationen finden Sie in dem von den Centers for Disease Control<sup>11</sup> herausgegebenen Handbuch.

#### SICHERHEITSHINWEISE

- Es wird erwartet, dass gute Laborpraktiken eingehalten und alle Verfahren für die Anwendung der manuellen Methode strikt befolgt werden.
- Alle Reagenzien sind bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil, wenn sie entsprechend den Lagerungsbedingungen aufbewahrt werden.
- Eine Verunreinigung der Reagenzien durch Mikroben kann zu inkorrekten Ergebnissen führen.
- Wenn anstelle von SUREPATH® PreCoat (beschichtete) Objektträger andere Objektträger verwendet werden, werden keine optimalen Ergebnisse erzielt.
- 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 getestet: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* und *Aspergillus niger*. Die allgemeinen Sicherheitshinweise für einen sicheren Umgang mit biologischen Flüssigkeiten sind dennoch jederzeit einzuhalten.

## 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® Preservative Fluid Collection Vial (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<sup>-</sup>- und GC Q<sup>-</sup>-DNA-Assays sind in den vom Hersteller bereitgestellten Packungsbeilagen der Assays enthalten.

## ERFORDERLICHES MATERIAL

### Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäß für Konservierungslösung)
- PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (Absetzkammern)
- SUREPATH® PreCoat slides (beschichtete Objektträger)
- Zentrifugenröhrchen
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipetten)
- Saugspitzen

### Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- Zentrifuge
- Objektträgerhalter
- Easy Aspirator (optional)
- Bearbeitungsträger (optional)
- Abstrichbürste oder endozervikale Bürste/Kunststoffspatel mit abnehmbarem Kopf/Köpfen
- Vortex-Mixer
- Präzisionspipetten mit Einwegspitzen
- Entionisiertes Wasser (pH 7,5 bis 8,5)
- Isopropanol und Reagenzalkohol
- Färbereagenzien
- Klärmittel, Eindeckmedien, 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<sup>-</sup>- und GC Q<sup>-</sup>-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<sup>-</sup>- und GC Q<sup>-</sup>-DNA-Assays übertragen wird.

## VERFAHREN

- Nachdem die Probe mit einer Rovers Cervex-Brush® oder einem ähnlichen Probenentnahme-Instrument entnommen wurde, wird der Bürstenkopf direkt in der Flüssigkeit ausgespült, vom Griff getrennt und in ein SUREPATH® Preservative Fluid vial (Versandgefäß für Konservierungslösung) gegeben. Das Gefäß wird gut verschlossen, etikettiert und an das Labor geschickt.
- Sind die Probengefäße im Labor angekommen, wird jedes Gefäß mit einem etikettierten Zentrifugenröhrchen, das mit 4 ml PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) vorgefüllt ist, und mit einem etikettierten, SUREPATH® PreCoat (beschichteten) Objektträger in den Bearbeitungsträger gestellt. Bevor die Probe ins Röhrchen gegeben wird, muss das PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) zugegeben werden, da die Leistung sonst beeinträchtigt wird.
- Jede Probe 10 – 20 Sekunden lang heftig vortexieren. (Das Volumen des SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Versandgefäßes für Konservierungslösung) reicht aus, um bis zu 0,5 mL einer homogenen Zell-/Flüssigkeitsmischung für Zusatztests entnehmen zu können, sodass immer noch genügend Volumen zur Verfügung steht, um den Pap-Test durchzuführen. Die Aliquot-Entnahme kann im SUREPATH® LBC Test process (LBC-Testverfahren) nach diesem Vortexier-Schritt durchgeführt werden.)
  - Die Probe wird mithilfe des PREPMATE™ Automatisierten Zusatzgeräts und der PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipetten) übertragen. Anweisungen siehe PREPMATE Benutzerhandbuch. **Oder**
  - Den Deckel des Gefäßes entfernen. Eine Flasche mit SUREPATH® Preservative Vial (Konservierungslösung) in einer Hand halten und vorsichtig eine PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipette) bis zum Anschlag in die Flasche drücken, wobei das Ende der PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipette) vom Gesicht weg zeigen muss. Die Flasche/PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipette) in das entsprechend nummerierte Röhrchen mit PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) invertieren. Bevor fortgefahren wird, muss die gesamte Probenflüssigkeit aus der PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Spritzenpipette) abgeflossen sein. **Oder**
  - Den Deckel des Gefäßes entfernen. Langsam etwa 8 ml der Probe auf das PREPSTAIN® Density Reagent (Dichtereagenz) gießen.
- Die Röhrchen wie im Verfahrenshandbuch dargestellt in die Zentrifugenhalter stellen (jeder Zentrifugenhalter kann 12 Röhrchen aufnehmen). Die Anordnung ist wichtig und muss gleichmäßig erfolgen.
- Falls nötig, die Zentrifugenröhrchen mit zusätzlicher Konservierungslösung ausgleichen und die Proben 2 Minuten lang bei 200-facher Schwerkraft zentrifugieren.
- Wenn der Easy Aspirator verwendet wird, das Easy Aspirator-System einschalten und den Druck auf 229 ± 51 mm Hg einstellen. Saubere Spitzen auf den Easy Aspirator-Sauger aufsetzen.

7. Die Zentrifugenröhrchenhalter aus der Zentrifuge entnehmen. Die Easy Aspirator-Spitzen (oder Einweg-Transferpipetten) langsam in die Zentrifugenröhrchen absenken, um den Überschuss abzusaugen. Nach Beenden dieses Schritts sollte das Absauggerät die Oberkante der Röhrchen berühren. Zwischen den Proben die Saugspitzen mit Wasser spülen.
8. Die Röhrchen 10 Minuten lang bei 800-facher Schwerkraft zentrifugieren, damit die diagnostischen Bestandteile am Boden des Röhrchens ein Zellpellet bilden.
9. Den Zentrifugenröhrchenhalter aus der Zentrifuge entnehmen. Sorgfältig und rasch in den Ausguss abgießen. Bei umgekehrtem Halter die Röhrchen sorgfältig an absorbierendem Papier abtupfen, wobei darauf zu achten ist, dass die Zellpellets in den Röhrchen verbleiben.
10. Einen SUREPATH® PreCoat slide (beschichteten Objektträger) mit den einzelnen Probennummern etikettieren, wobei die Oberfläche des SUREPATH® PreCoat slide (beschichteten Objektträgers) nicht berührt werden darf. Die Objektträger in den Objektträgerhalter stellen und eine PREPSTAIN® Settling Chamber (Absetzkammer) auf jeden Objektträger aufsetzen. Die Position eines jeden nummerierten SUREPATH® PreCoat slide (beschichteten Objektträgers) auf der Platte muss der Position des entsprechenden Zentrifugenröhrchens entsprechen.
11. Jeder Probe 4 mL entionisiertes Wasser (pH 7,5 bis 8,5) zugeben und durch Vortexieren gut vermischen.
12. Ein Röhrchen nach dem andern vortexieren und sofort 800 µL der Zellsuspension in die entsprechend nummerierte PREPSTAIN® Settling Chamber/ (Absetzkammer) bzw. auf den SUREPATH® PreCoat slide (beschichteten Objektträger) geben. Für jede Probe wiederholen.
13. Zehn Minuten warten, bis es zu einer vollständigen Sedimentierung gekommen ist. Nach der Sedimentierung die Objektträgerplatte(n) sorgfältig über dem Ausguss umdrehen, um die zurückgebliebene Flüssigkeit abzugießen, und die überschüssige Flüssigkeit mit absorbierendem Papier aufnehmen.
14. Jede PREPSTAIN® Settling Chamber (Absetzkammer) mit 500 µL denaturiertem Ethanol spülen und abschütten. Das Spülen mit Alkohol wiederholen, die zurückgebliebene Flüssigkeit abgießen und überschüssige Flüssigkeit mit absorbierendem Papier aufnehmen, wobei die Kammern mindestens 1 Minute lang umgedreht bleiben müssen.
15. Die PREPSTAIN® Settling Chamber (Absetzkammer) entfernen.
16. Die SUREPATH®-Objektträger färben und mit einem Deckglas versehen.

#### ERGEBNISSE UND INTERPRETATION

- Alle diagnostischen Kriterien, die derzeit in Zytologielabors bei herkömmlichen Pap-Abstrichen angewendet werden, können auch bei den TRIPATH Imaging®, Inc. Präparaten auf Flüssigkeitsbasis angewendet werden.
- Jede abnormale oder fragliche Beobachtung bei einem Screening sollte zur Überprüfung und Diagnose an einen Pathologen weitergeleitet werden. Alle zellmorphologischen Veränderungen sind von Bedeutung und sollten beachtet werden.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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 RECHTE VORBEHALTEN.

BD, das BD-Logo und BD ProbeTec sind Marken von Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

# MÉTHODE MANUELLE

## Processus de préparation cellulaire pour les applications gynécologiques

REF 490529 REF 490635

### APPLICATION

#### Utilisation diagnostique in vitro

La méthode manuelle permet de produire des préparations cellulaires liquides. Elle est destinée à remplacer la méthode de préparation classique par frottis Pap, à des fins de dépistage du cancer du col de l'utérus.

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<sup>+</sup> et *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup>. 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

Le dépistage cytologique cervical par la méthode Papanicolaou (Pap) requiert l'examen au microscope d'échantillons cellulaires prélevés, à l'origine, sur l'exocol et l'endocol, puis étalés sur des lames en verre et colorés à l'aide du procédé Pap.<sup>1,2,3</sup> Le dépistage cytologique réalisé sur le col de l'utérus sur la base d'un frottis Pap a permis de réduire les taux de mortalité due au cancer invasif du col de l'utérus, de 50 à 70 %.<sup>4</sup> Étant donné que la cytologie cervicale constitue un test de dépistage, les résultats anormaux doivent être confirmés par une analyse histologique.

La qualité du prélèvement et de la préparation des échantillons est déterminante pour la précision des frottis Pap. La randomisation ou le sous-échantillonnage homogène est essentiel pour obtenir une précision parfaite. La technique classique de réalisation des frottis Pap ne permet pas de mélanger l'échantillon avant la préparation des lames. En raison de la présence de cellules dans le mucus sur le dispositif de prélèvement, il est possible que les cellules effectivement transférées sur la lame ne soient pas représentatives de l'ensemble de la population prélevée. Les cellules sont transférées sur la lame en fonction de leur emplacement sur le dispositif de prélèvement. De nombreuses cellules restent sur le dispositif.<sup>5</sup>

L'absence d'homogénéité du prélèvement cervical type peut compliquer la préparation, le dépistage et l'interprétation du frottis classique. De grandes parties de la lame classique sont souvent couvertes de débris, de cellules inflammatoires et de gros amas de cellules épithéliales pouvant masquer des substances importantes pour le diagnostic. En outre, si le frottis n'est pas fixé juste après la préparation, l'aspect morphologique des cellules peut se dégrader à mesure que le frottis sèche (artefact de séchage à l'air).

La méthode manuelle permet de transformer une suspension liquide d'échantillon cervical en une lame SUREPATH® homogène, à coloration uniforme, tout en conservant les amas cellulaires pour le diagnostic.<sup>6,7,8,9</sup> Ce procédé intègre la conservation des cellules,

la randomisation, l'enrichissement du matériel de diagnostic, le pipetage et la sédimentation de manière à créer une préparation cellulaire. On obtient ainsi une lame SUREPATH® servant pour le dépistage cytologique de routine et le classement selon le système Bethesda.<sup>10</sup>

### PRINCIPES DE LA MÉTHODE

La méthode manuelle permet de produire des préparations de produits cellulaires liquides. Les échantillons gynécologiques sont prélevés par un personnel médical qualifié, qui utilise des dispositifs de type balai (par ex., Cervex Brush®) ou une combinaison de spatule en plastique et brosse endocervicale (par ex., Cytobrush® Plus GT et spatule Pap-Perfect®, Medscand (Etats-Unis) Inc.) à têtes amovibles. La tête de la brosse est détachée du manche puis placée dans un flacon contenant le SUREPATH® Preservative Fluid (liquide de conservation). Le flacon est rebouché, étiqueté et envoyé au laboratoire, avec les documents nécessaires à son traitement.

En laboratoire, l'échantillon conservé est mélangé au vortex puis transféré dans un tube contenant le réactif de densité PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité). Une phase d'enrichissement, consistant en une sédimentation par centrifugation réalisée avec le réactif de densité PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité), permet d'éliminer partiellement de l'échantillon les débris inutiles au diagnostic et l'excès de cellules inflammatoires. Après la centrifugation, les composants cellulaires enrichis contenus dans le tube sont mis en suspension avec de l'eau désionisée. Ce mélange est resuspendu avec un pipetteur, au moyen d'une séquence aspiration/distribution. L'échantillon est ensuite transféré dans une chambre de décantation PREPSTAIN® Settling Chamber (chambre de décantation) montée sur une lame SUREPATH® PreCoat (sous-couche). La sédimentation par gravité se produit pendant une incubation de courte durée. L'excès de matériel est décanté. La lame SUREPATH® PreCoat (sous-couche) est colorée, nettoyée et recouverte d'une lamelle : les cellules sont présentées dans un cercle de 13 mm de diamètre. La lame SUREPATH® est examinée par des cytologistes et des pathologistes qualifiés, ayant accès à d'autres informations pertinentes sur les antécédents médicaux de la patiente.

### LIMITES

- Les échantillons gynécologiques à préparer suivant la méthode manuelle doivent être recueillis à l'aide d'un dispositif de prélèvement de type balai, conformément à la procédure de prélèvement standard indiquée par le fabricant.
- La production et l'évaluation des préparations liquides TRIPATH Imaging®, Inc doivent être effectuées uniquement par un personnel formé par TRIPATH ou par d'autres personnes habilitées par TRIPATH à fournir cette formation.
- Le dispositif ne fonctionne correctement qu'avec les accessoires pris en charge par TRIPATH Imaging®, Inc ou recommandés par TRIPATH Imaging®, Inc. Les fournitures et les produits usagés doivent être mis 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 SUREPATH® LBC Test.

### AVERTISSEMENTS

- Le SUREPATH® Preservative Fluid (liquide de conservation) contient une solution diluée composée d'éthanol dénaturé et ne doit pas être ingéré. Le mélange contient de petites quantités de méthanol et d'isopropanol qui, en cas d'ingestion, peuvent provoquer des blessures graves, voire une cécité.
- Le PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité) contient de l'acide de sodium. 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 au guide des méthodes manuelles publié par les Centers for Disease Control<sup>11</sup>.

### PRÉCAUTIONS

- Les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées et toutes les procédures relatives à l'utilisation de la méthode manuelle doivent être rigoureusement observées.
- Tous les réactifs sont stables jusqu'à leur date de péremption, dans la mesure où les conditions de conservation recommandées sont respectées et maintenues.
- La contamination microbienne des réactifs peut fausser les résultats.
- L'utilisation de lames autres que les lames SUREPATH® PreCoat (sous-couche) peut produire des résultats médiocres.
- 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*. Il convient toutefois de toujours respecter les précautions universelles de manipulation des liquides biologiques.

### EXTRACTION FACULTATIVE DE L'ALIQUOTE

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 SUREPATH® Pap Test, 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 corrélés 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 matériau biologique insuffisant pour la préparation d'un SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) adapté au test SUREPATH® Pap.

L'aliquote doit être extraite avant le traitement du test SUREPATH® Pap. 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 (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) pendant 10 à 20 secondes, et d'extraire l'aliquote de 0,5 ml 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 déceler toute présence de grosses particules en suspension ou de semi-solides. En cas de détection de la 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<sup>x</sup> et GC Q<sup>x</sup>, se reporter aux notices livrées par le fabricant du test.

#### MATÉRIEL REQUIS

##### Matériel fourni

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation)
- PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (chambres de décantation)
- Lames SUREPATH® PreCoat (sous-couche)
- Tubes de centrifugation
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipettes)
- Embouts d'aspiration

##### Matériel requis mais non fourni

- Centrifugeuse
- Portoirs de lames
- Aspirateur Easy (en option)
- Plateau de traitement (en option)

- Dispositif de prélèvement de type balai ou brosse endocervicale/spatule en plastique à tête(s) amovible(s)
- Agitateur vortex
- Pipettes de précision avec embouts jetables
- Eau désionisée (pH 7,5 à 8,5)
- Isopropanol et alcool de type réactif
- Réactifs de coloration
- Agent de nettoyage, milieu et lamelles de recouvrement

#### CONSERVATION

- Le SUREPATH® Preservative Fluid (liquide de conservation) sans échantillon cytologique peut être conservé à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à 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 échantillon cytologique à utiliser avec les tests à ADN amplifié BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> et GC Q<sup>x</sup> 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<sup>x</sup>.

#### PROCÉDURES

1. Une fois l'échantillon prélevé à l'aide de la brosse Rovers Cervex-Brush® ou d'un dispositif de prélèvement équivalent, la tête de la brosse doit être rincée directement dans le liquide, retirée du manche et placée dans un SUREPATH® Preservative Fluid Vial (flacon avec liquide de conservation). Le flacon est ensuite fermement rebouché, étiqueté et envoyé au laboratoire, avec les documents nécessaires à son traitement.
2. Une fois que le laboratoire est entré en possession des flacons de prélèvement, placer chaque flacon dans le plateau de traitement avec un tube de centrifugation étiqueté, rempli au préalable de 4 ml de PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité) et une lame étiquetée SUREPATH® PreCoat (sous-couche). Le PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité) doit être ajouté au tube avant l'échantillon, afin d'en préserver l'efficacité.
3. Mélanger énergiquement chaque flacon de prélèvement au vortex pendant 10 à 20 secondes. (Le volume présent dans le SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) est suffisant pour permettre l'extraction de Syringing Pipettes 0,5 ml de mélange homogène de cellules et de liquide à des fins de test complémentaire préalable au test SUREPATH® Pap, qui peut toujours être réalisé ensuite avec le volume restant. L'aliquotage peut être réalisé après l'étape de mélange au vortex dans le cadre du processus de test SUREPATH® LBC.)
  - Utiliser l'accessoire PREPMATE™ Automated Accessory et les pipettes PREPSTAIN® Syringing Pipettes pour transférer l'échantillon. Se reporter aux instructions du manuel d'utilisation PREPMATE **Ou**
  - Retirer le bouchon du flacon. Tout en maintenant la

pipette PREPSTAIN® éloignée de votre visage, tenir le SUREPATH® Preservative Vial d'une main puis, de l'autre, enfoncer délicatement une pipette SUREPATH® dans le flacon jusqu'à ce qu'elle s'arrête. Renverser l'ensemble flacon/pipette SUREPATH® dans le tube PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité) correctement numéroté. Laisser toute la solution d'échantillon se vider complètement de la pipette SUREPATH® avant de continuer. **Ou**

- Retirer le bouchon du flacon. Verser lentement environ 8 ml d'échantillon dans le PREPSTAIN® Density Reagent (réactif de densité).
4. Placer les tubes dans les portoirs de centrifugation, en respectant le schéma de positionnement indiqué dans le manuel de procédure (chaque portoir peut accueillir jusqu'à 12 tubes). La séquence de placement est primordiale et doit être équilibrée.
  5. Équilibrer les tubes à centrifuger en ajoutant du liquide de conservation, si nécessaire, et centrifuger les échantillons pendant 2 minutes à 200 x g.
  6. Si l'aspirateur Easy est utilisé, mettre le système d'aspirateur Easy sous tension et régler la pression sur 9 ± 2 en Hg. Placer des embouts propres sur l'aspirateur Easy.
  7. Retirer les portoirs de tubes de centrifugation de la centrifugeuse. Abaisser lentement les embouts de l'aspirateur Easy (ou les pipettes de transfert jetables) dans les tubes de centrifugation afin d'aspirer le surnageant. Le dispositif d'aspiration doit toucher le haut des tubes à la fin du processus. Rincer à l'eau les embouts de l'aspirateur entre les échantillons.
  8. Centrifuger les tubes pendant 10 minutes à 800 x g pour concentrer le composant diagnostique dans un culot cellulaire au fond du tube.
  9. Retirer le portoir de tubes de la centrifugeuse. Décanter délicatement et rapidement dans l'évier. En maintenant le portoir renversé, absorber soigneusement le contenu des tubes à l'aide d'un buvard tout en s'assurant que le culot cellulaire reste dans le tube.
  10. Étiqueter une lame SUREPATH® PreCoat (sous-couche) avec le numéro de chaque échantillon, en prenant soin de ne pas toucher la surface de la lame SUREPATH® PreCoat (sous-couche). Placer les lames dans le portoir de lames et fixer une PREPSTAIN® Settling Chamber (chambre de décantation) sur chaque lame. La position de chaque lame numérotée SUREPATH® PreCoat (sous-couche) sur le plateau doit correspondre à la position du tube de centrifugation associé.
  11. Ajouter 4 ml d'eau désionisée (pH 7,5 à 8) à chaque tube d'échantillon et bien mélanger au vortex.
  12. En travaillant avec un tube d'échantillon à la fois, mélanger le tube au vortex et transférer immédiatement 800 µl de suspension cellulaire dans la PREPSTAIN® Settling Chamber (chambre de décantation)/lame SUREPATH® PreCoat (sous-couche) portant le numéro correspondant. Répéter l'opération pour chaque échantillon.

13. Attendre 10 minutes de manière à ce que la sédimentation soit complète. Après la sédimentation, renverser délicatement le plateau des lames au-dessus de l'évier pour décanter le liquide restant et absorber le surplus de liquide à l'aide d'un buvard.
  14. Rincer chaque PREPSTAIN® Settling Chamber (chambre de décantation) avec 500 µl d'alcool dénaturé et décanter. Recommencer le rinçage à l'alcool, décanter le liquide restant et absorber le surplus de liquide à l'aide d'un buvard, en tenant le matériel renversé pendant au moins 1 minute.
  15. Retirer la PREPSTAIN® Settling Chamber (chambre de décantation).
  16. Colorer les lames SUREPATH® et les recouvrir de lamelles.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
  11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### **Technical Support**

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TOUS DROITS RÉSERVÉS.

BD, le logo BD et BD ProbeTec sont des marques commerciales de Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

#### **RÉSULTATS ET INTERPRÉTATION**

- Tous les critères de diagnostic actuellement utilisés dans les laboratoires de cytologie pour les frottis Pap classiques sont applicables aux préparations liquides TRIPATH Imaging®, Inc.
- Toute observation anormale ou suspecte doit être signalée à un pathologiste à des fins d'examen et de diagnostic. Toutes les modifications morphologiques cellulaires sont importantes et doivent être relevées.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.

# MANUAL METHOD (Método manual)

## Proceso de preparación de células para aplicaciones ginecológicas

REF 490529

REF 490635

### USO PREVISTO

#### Para uso diagnóstico in vitro

El Manual Method (método manual) se utiliza para obtener preparaciones de células basadas en líquido (LBP). Sirve como sustituto del método convencional de preparación de extensiones de pruebas de Papanicolaou para utilizar en la detección de cáncer cervical.

El SUREPATH® Preservative Fluid (líquido conservante) es un medio de transporte y recogida adecuado para muestras ginecológicas probadas con el análisis BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>x</sup> and *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>x</sup> y *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>x</sup>). 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

Un examen citológico cervical con el método de Papanicolaou (Pap) implica un estudio microscópico de las muestras de células principalmente ectocervicales y endocervicales extendidas en portaobjetos de vidrio y teñidas mediante el procedimiento de Papanicolaou<sup>1,2,3</sup>. Los estudios citológicos cervicales con el método de extensión de Papanicolaou han reducido los índices de mortalidad por carcinoma cervical invasivo entre un 50 y un 70%<sup>4</sup>. Debido a que la citología cervical constituye una prueba de detección, los resultados anormales deberán ser confirmados mediante estudios histológicos. La recogida y preparación de las muestras son procesos sumamente importantes para garantizar la precisión de las extensiones de Papanicolaou. La randomización o el submuestreo uniforme resultan esenciales para confirmar la exactitud. Las técnicas de extensión de Papanicolaou convencionales no permiten mezclar la muestra antes de preparar el portaobjetos. Debido a la presencia de células en las mucosas en el dispositivo de muestreo, es posible que las células que se transfieran al portaobjetos no sean representativas de todas las células recogidas. Las células se transfieren al portaobjetos según la posición que ocupan en el dispositivo de muestreo. Muchas células se quedan en el dispositivo<sup>5</sup>.

La falta de homogeneidad en una muestra cervical típica puede dificultar la preparación, el estudio y la interpretación de las extensiones convencionales. A menudo, grandes zonas del portaobjetos convencional están cubiertas de detritos, células inflamatorias y capas de células epiteliales que pueden ocultar un valioso material de diagnóstico. Además, si la extensión no se fija inmediatamente después de su preparación, la morfología celular puede sufrir distorsiones a medida que se va secando la extensión (artefacto de secado por aire).

El Manual Method (método manual) convierte una suspensión líquida de una muestra cervical en un SUREPATH® slide (portaobjetos)

homogéneo y con tinción uniforme, mientras conserva agrupamientos de células de diagnóstico<sup>6,7,8,9</sup>. El proceso incluye la conservación de las células, la randomización, la potenciación del material de diagnóstico, el pipeteado y la sedimentación para crear una preparación celular. El resultado del proceso de preparación es un SUREPATH® slide (portaobjetos) para utilizar en pruebas citológicas rutinarias y su clasificación según The Bethesda System<sup>10</sup>.

### PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El Manual Method (método manual) se utiliza para obtener preparaciones de células basadas en líquido (LBP) de células cervicales. El personal médico cualificado utiliza dispositivos de tipo escobilla (p. ej., Cervex-Brush®) o dispositivos de combinación de espátula de plástico y cepillo endocervical (p. ej., Cytobrush® Plus GT y espátula Pap-Perfect®, MedScand (EE.UU.), Inc.) con cabezales desmontables para recoger las muestras ginecológicas.

El cabezal del cepillo se retira del asa y se coloca 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.

En el laboratorio, la muestra conservada se mezcla con vórtex y se transfiere a una probeta que contiene PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad). Un paso de potenciación, que consiste en la sedimentación centrífuga a través del PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad), elimina parcialmente los detritos y el exceso de células inflamatorias de la muestra. Después de la centrifugación, la probeta que contiene el componente celular enriquecido se reconstituye con agua desionizada y el material celular se vuelve a suspender con una pipeta, mediante un proceso de aspiración/dispensación. A continuación, la muestra se transfiere a una PREPSTAIN® Settling Chamber (cámara de sedimentación) montada en un SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos revestidos). Se produce una sedimentación por gravedad durante una breve incubación. El exceso de material se decanta. El SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos revestido) se tiñe, se limpia y se recubre, ocupando las células un círculo de 13 mm de diámetro. Posteriormente, es estudiado por citotécnicos y patólogos cualificados junto con otra información importante del paciente.

### LIMITACIONES

- Las muestras ginecológicas para preparación con el Manual Method (método manual) deberán recogerse con un dispositivo de tipo escobilla según el procedimiento de recogida estándar proporcionado por el fabricante.
- La producción y evaluación de las preparaciones basadas en líquido de TRIPATH Imaging®, Inc sólo deberán ser realizadas por personal formado por TRIPATH u otro personal autorizado por TRIPATH para impartir dicha formación.
- El dispositivo funcionará correctamente sólo con productos admitidos o recomendados por TRIPATH Imaging®, Inc. Los productos utilizados deben eliminarse según las normativas institucionales y gubernamentales.
- 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 proceso de prueba de SUREPATH® LBC Test.

### ADVERTENCIAS

- El SUREPATH® Preservative Fluid (líquido conservante) contiene una solución de dilución de etanol desnaturalizado y no es apto para el consumo humano. La mezcla contiene pequeñas cantidades de metanol e isopropanol, que son perjudiciales y pueden causar ceguera en caso de ingestión.
- El PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad) contiene azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas de metal altamente explosivas. Cuando la deseche, deje correr agua abundante para evitar la acumulación de azida. Para obtener más información, consultar el documento Manual Guide (Guía Manual) publicado por Centers for Disease Control<sup>11</sup>.

### PRECAUCIONES

- Deberán seguirse buenas prácticas de laboratorio y cumplirse estrictamente todos los procedimientos de uso del Manual Method (Método Manual).
- Todos los reactivos permanecerán estables hasta su fecha de caducidad indicada, siempre y cuando se sigan y se mantengan las condiciones de conservación recomendadas.
- La contaminación microbiana de los reactivos puede producir resultados incorrectos.
- El uso de portaobjetos que no sean SUREPATH® PreCoat slides (portaobjetos revestidos) puede dar lugar a resultados deficientes.
- Evite salpicaduras o la formación de aerosoles. Utilice 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 contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis*, y *Aspergillus niger*. No obstante, deberán tomarse en todo momento las precauciones universales para la manipulación segura de fluidos biológicos.

## 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 de 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<sup>x</sup> y GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado), consulte los folletos de la caja suministrados por el fabricante del análisis.

## MATERIALES NECESARIOS

### Materiales suministrados

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante)
- PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (cámaras de sedimentación)
- SUREPATH® PreCoat slides (portaobjetos prerrevestidos)
- Tubos de centrifugado
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar)
- Puntas de aspirador

### Materiales necesarios pero no suministrados

- Centrífuga
- Gradillas
- Aspirador Easy Aspirator (opcional)
- Bandeja de procesado (opcional)
- Dispositivo de muestreo de tipo escobilla o espátula de plástico/cepillo endocervical con cabezal(es) desmontable(s)
- Mezclador vórtex
- Pipetas de precisión con puntas desechables
- Agua desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol y alcohol reactivo
- Reactivos de tinción
- Agente de limpieza, medios de montaje, cubreobjetos

## CONSERVACIÓN

- El SUREPATH® Preservative Fluid (líquido conservante) sin muestras citológicas puede almacenarse a temperatura ambiente (de 15 a 30° C) durante un máximo de 36 meses desde la fecha de fabricación.
- 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 BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> y GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays (análisis amplificado de ADN) 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™ CT Q<sup>x</sup> y GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado).

## PROCEDIMIENTOS

1. Una vez recogida la muestra con un Rovers Cervex-Brush® u otro dispositivo de muestreo equivalente, el cabezal del cepillo se lava directamente en el líquido, se retira del asa y se deposita

en un vial de SUREPATH® Preservative Fluid (líquido conservante). El vial se cierra bien, se etiqueta y se envía al laboratorio.

2. Cuando los viales con las muestras lleguen al laboratorio, coloque cada vial en la bandeja de procesado con un tubo de centrifugado etiquetado y llenado previamente con 4 mL de PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad) y un SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos prerrevestido) etiquetado. Deberá añadirse PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad) al tubo antes de introducir la muestra para evitar que se reduzca el rendimiento.
3. Mezcle enérgicamente cada vial con vórtex durante 10 – 20 segundos.

(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, dejando suficiente volumen para realizar la prueba de Papanicolaou. La retirada de parte alícuota puede realizarse después del paso de agitación con vórtex en el proceso de prueba de SUREPATH® LBC Test.)

- Utilice el PREPMATE™ Automated Accessory (accesorio automatizado) y las PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar) para transferir la muestra. Consulte el Manual del usuario de PREPMATE™ para obtener instrucciones. **O bien**
  - Retire el tapón del vial. Sostenga un SUREPATH® Preservative Vial (vial conservante) con una mano e introduzca en él con cuidado las PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar) hasta que se detengan, con el extremo de las pipetas en la dirección opuesta a la cara del usuario. Vierta el contenido del conjunto vial/PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar) en el tubo de PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad) debidamente numerado. Deje que se vacíe completamente toda la solución de la muestra de las PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetas para dispensar) antes de continuar. **O bien**
  - Retire el tapón del vial. Vierta lentamente unos 8 mL de la muestra en el PREPSTAIN® Density Reagent (reactivo de densidad).
4. Coloque los tubos en las gradillas de centrifugado según el diagrama de la secuencia de colocación que aparece en el Manual de procedimientos (cada gradilla tiene una capacidad para 12 tubos). La secuencia de colocación resulta fundamental y deberá ser equilibrada.
  5. Equilibre los tubos de centrifugado añadiendo líquido conservante si es necesario y centrifugue las muestras durante 2 minutos a 200 x g.
  6. Si se utiliza el Easy Aspirator, encienda el sistema Easy Aspirator y ajuste la presión a 228 ± 50 mm de Hg. Coloque puntas limpias en el aspirador Easy Aspirator.
  7. Retire las gradillas de los tubos de centrifugado de la centrífuga. Baje lentamente las puntas del Easy Aspirator (o las pipetas de transferencia desechables) e introdúzcalas en los tubos de centrifugado para aspirar el sobrenadante. El dispositivo de aspiración deberá estar en contacto con la parte superior de los

- tubos cuando finalice el proceso. Lave con agua las puntas del aspirador entre las muestras.
8. Centrifugue los tubos durante 10 minutos a 800 x g para concentrar el componente de diagnóstico en un pellet en el fondo del tubo.
  9. Retire la gradilla de los tubos de la centrifuga. Decante el líquido con cuidado y rápidamente en la pila. Manteniendo la gradilla en posición invertida, seque con cuidado los tubos con papel absorbente y asegúrese de que el pellet no salga del tubo.
  10. Etiquete un SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos prerrevestido) con el número de cada muestra con cuidado de no tocar su superficie. Coloque los portaobjetos en la gradilla y fije una PREPSTAIN® Settling Chamber (cámara de sedimentación) en cada portaobjetos. La posición de cada SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos prerrevestido) numerado deberá coincidir con la posición del tubo de centrifugado correspondiente.
  11. Añada 4 mL de agua desionizada (pH 7,5 – 8,0) a cada tubo con muestra y mézclelo bien con vórtex.
  12. Trabajando con un tubo de muestra cada vez, mezcle con vórtex el contenido del tubo y transfiera inmediatamente 800 µL de suspensión de células a la PREPSTAIN® Settling Chamber (cámara de sedimentación)/ SUREPATH® PreCoat slide (portaobjetos prerrevestido) correspondientemente numerados. Repita el proceso con cada muestra.
  13. Deje transcurrir 10 minutos para obtener una sedimentación completa. Después de la sedimentación, invierta con cuidado las bandejas de los portaobjetos sobre la pila para decantar el fluido restante y seque el exceso de líquido con papel absorbente.
  14. Lave cada PREPSTAIN® Settling Chamber (cámara de sedimentación) con 500 µL de etanol desnaturalizado y decante el líquido. Repita el proceso de lavado con alcohol, decante el fluido restante y seque el exceso de líquido con papel absorbente, dejando las bandejas invertidas durante al menos 1 minuto.
  15. Retire la PREPSTAIN® Settling Chamber (cámara de sedimentación).
  16. Tiña y cubra los SUREPATH® Slides (portaobjetos).

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

- Todos los criterios de diagnóstico utilizados actualmente en laboratorios citológicos para extensiones de Papanicolaou convencionales son aplicables a las preparaciones de basadas en líquido de TRIPATH Imaging®, Inc.
- Cualquier resultado anormal o dudoso deberá remitirse a un patólogo para que proceda a su estudio y diagnóstico. Cualquier alteración morfológica celular es importante y deberá ser anotada.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS

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

## METODO MANUALE

### Procedimento di allestimento del preparato cellulare per applicazioni ginecologiche

REF 490529      REF 490635

#### USO PREVISTO

##### Per uso diagnostico in vitro

Il metodo manuale è una metodica per l'allestimento di preparati cellulari con base liquida (LBP). Il metodo manuale deve essere utilizzato in sostituzione della tradizionale metodica di allestimento del Pap smear utilizzata nello screening del carcinoma della cervice.

Il SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) è una soluzione adatta alla raccolta e al trasporto di campioni ginecologici da sottoporre ai saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup>. Per istruzioni sull'uso del SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) per la preparazione dei campioni da utilizzare in questi saggi, fare riferimento al foglietto illustrativo.

#### SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Lo screening citologico cervicale con test di Papanicolaou (Pap) comprende l'analisi al microscopio dei campioni di cellule prelevate principalmente dall'escervice e dall'endocervice, strisciate su vetrini e colorate mediante la procedura di colorazione di Papanicolaou.<sup>1,2,3</sup> Lo screening citologico cervicale con Pap smear ha ridotto i tassi di mortalità per carcinoma cervicale invasivo del 50 - 70%.<sup>4</sup> Dato che la citologia cervicale è un test di screening, è necessaria la conferma istologica dei risultati anomali.

Il prelievo e la preparazione dei campioni sono estremamente importanti per l'accuratezza nei Pap smear. La randomizzazione o il sottocampionamento uniforme è indispensabile per una totale accuratezza. La tradizionale tecnica di Pap smear non prevede il mescolamento del campione prima dell'allestimento del vetrino. A causa della legatura delle cellule nel muco nel dispositivo per il prelievo, è possibile che le cellule effettivamente trasferite sul vetrino non rappresentino il totale della popolazione cellulare prelevata. Le cellule vengono trasferite sul vetrino in rapporto alla loro collocazione sul dispositivo per il prelievo. Molte cellule vengono lasciate sul dispositivo.<sup>5</sup>

La disomogeneità di un tipico campione cervicale può rendere difficile l'allestimento, lo screening e l'interpretazione degli strisci convenzionali. Ampie aree del vetrino convenzionale vengono spesso coperte di detriti, cellule infiammatorie e strati di cellule epiteliali che possono oscurare il prezioso materiale diagnostico. Inoltre, se non si fissa lo striscio subito dopo l'allestimento, è possibile che la morfologia cellulare risulti alterata a causa dell'essiccazione dello striscio (artefatto per essiccazione all'aria).

Il metodo manuale converte una sospensione liquida di un campione di cellule cervicali in un BD SUREPATH® slide (vetrino) omogeneo con colorazione uniforme mantenendo nel contempo i gruppi di cellule diagnostici.<sup>6,7,8,9</sup> Il procedimento per la creazione del preparato cellulare comprende la conservazione delle cellule, la randomizzazione, l'arricchimento del materiale diagnostico, la pipettatura e la sedimentazione. Il risultato del procedimento è un SUREPATH® slide (vetrino) da usare nello screening citologico di routine e nella categorizzazione definita dal sistema Bethesda.<sup>10</sup>

#### PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il metodo manuale è una tecnica di allestimento LBP delle cellule cervicali. I campioni ginecologici vengono prelevati da personale medico qualificato utilizzando dispositivi del tipo cervex brush (per esempio, Cervex-Brush®) o dispositivi combinati del tipo brush endocervicale/spatola in plastica (per esempio, spatole Cytobrush® Plus GT e Pap-Perfect®, MedScand USA, Inc.) con teste smontabili. La testa del dispositivo di prelievo viene tolta dall'impugnatura e inserita in una fiala di BD SUREPATH® Preservative Fluid (conservante). La fiala viene quindi chiusa con il tappo, etichettata e inviata con la dovuta documentazione allegata al laboratorio di analisi.

In laboratorio, il campione conservato viene mescolato su vortex e trasferito in una provetta contenente PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità). La fase di arricchimento, consistente nella sedimentazione centrifuga mediante PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità), rimuove parzialmente dal campione i detriti non diagnostici e l'eccesso di cellule infiammatorie. Dopo la centrifugazione la provetta contenente il componente cellulare arricchito viene ricostituita con acqua deionizzata e il materiale cellulare viene risospeso con una pipettrice, praticando una sequenza di aspirazione e di erogazione. Il materiale campione viene quindi trasferito nella PREPSTAIN® Settling Chamber (camera di decantazione) montata su un SUREPATH® PreCoat Slide (vetrino). La sedimentazione per gravità avviene nel corso di una breve incubazione. Il materiale in eccesso viene decantato. Le cellule vengono disposte sul SUREPATH® PreCoat Slide (vetrino) precedentemente colorato e schiarito, in modo da ricoprire un'area circolare del diametro di 13 mm, quindi viene montato il relativo coprioggetto. Qualificati tecnici di citologia e medici patologi esamineranno il SUREPATH® Slide (vetrino), insieme ad altre informazioni pertinenti relative alla paziente.

#### LIMITAZIONI

- I campioni ginecologici per l'allestimento con il metodo manuale devono essere prelevati utilizzando un dispositivo del tipo cervex brush secondo la tecnica di prelievo standard prevista dal produttore.
- La produzione e l'esame dei preparati con base liquida TRIPATH Imaging®, Inc devono essere eseguiti solamente da personale opportunamente addestrato da BD Diagnostics - TriPath o da terzi autorizzati da BD Diagnostics - TriPath a fornire tale formazione.

- Per il corretto funzionamento del dispositivo è necessario utilizzare esclusivamente forniture TRIPATH Imaging®, Inc o prodotti consigliati da TRIPATH Imaging®, Inc. Le forniture usate dovrebbero essere smaltite correttamente in conformità con le normative istituzionali e governative vigenti.
- 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 in una SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante).

#### AVVERTENZE

- Il SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) contiene una soluzione diluita di etanolo denaturato e non è destinato al consumo umano. La miscela contiene piccole quantità di metanolo e isopropanolo che, se ingerite, possono risultare pericolose e provocare cecità.
- Il PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità) contiene sodio azide. La sodio azide può reagire con il piombo e il rame delle tubature, formando azidi metalliche altamente esplosive. Al momento dello smaltimento, sciappare le tubature con abbondante acqua per evitare l'accumulo di azide. Per ulteriori informazioni, consultare la Manual Guide pubblicata dai Centers for Disease Control (CDC).<sup>11</sup>

#### PRECAUZIONI

- Si richiede la stretta osservanza delle buone pratiche di laboratorio e di tutte le procedure per l'uso del metodo manuale.
- Tutti i reagenti sono stabili fino alle date di scadenza indicate, purché si seguano e si mantengano le condizioni di conservazione raccomandate.
- La contaminazione microbica dei reagenti può dare origine a risultati errati.
- La sostituzione di vetrini diversi dai SUREPATH® PreCoat Slide (vetrini) può inficiare il livello ottimale dei risultati.
- Evitare schizzi o generazione di aerosol. Utilizzare mezzi di protezione adeguati per le mani, gli occhi e gli indumenti.
- Il SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) è battericida ed è stato sottoposto a test di efficacia nei confronti di *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger*. Tuttavia, è necessario adottare sempre misure precauzionali standard per una manipolazione sicura dei liquidi biologici.

#### PRELIEVO OPZIONALE DI UN'ALIQUOTA

La SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante) può contenere un volume di campione sufficiente a consentire il prelievo di 0,5 mL di miscela omogenea di cellule e liquido per test ausiliari prima dell'esecuzione del pap test SUREPATH® conservando ancora un volume sufficiente per questo test.

Non esistono prove che il prelievo di un'aliquota di campione dalla 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 di un'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 di questo 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 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 provvista di 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 un'area adeguata, fuori dalla zona in cui viene eseguita l'amplificazione.
3. Verificare visivamente che il materiale dell'aliquota presente nella pipetta non presenti particolari grossolani di grandi dimensioni o semisolidi. Il riscontro di questo materiale durante il prelievo dell'aliquota del campione dovrebbe consigliare di reinfondere il materiale nella fiala e scartare il campione per i test ausiliari prima dell'esecuzione del pap test.
4. Per istruzioni per il trattamento dell'aliquota con i test di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ Chlamydia trachomatis (CT) Q<sup>x</sup> e Neisseria gonorrhoeae (GC) Q<sup>x</sup>, fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio fornito dal produttore.

#### MATERIALI NECESSARI

##### Materiali forniti

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (fiala per il prelievo con conservante)
- PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (camere di sedimentazione)
- SurePath® PreCoat slides (vetrini)
- Provette per centrifuga
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipette di erogazione)
- Punte per aspiratore

##### Materiali necessari ma non forniti

- Centrifuga
- Rack per vetrini
- Aspiratore Easy Aspirator (opzionale)
- Vaschetta di analisi (opzionale)
- Dispositivo di prelievo tipo cervex brush o brush/spatola di plastica endocervicale con una o più teste staccabili
- Miscelatore vortex
- Pipette di precisione con punte monouso
- Acqua deionizzata (pH 7,5 - 8,5)
- Isopropanolo e alcool per reagente
- Reagenti di colorazione
- Diafanizzante, mezzo di montaggio, vetrini coprioggetti

#### STOCCAGGIO

- Il SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) privo di campioni citologici può essere stoccato a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) per un massimo di 36 mesi dalla data di produzione.
- La durata massima di stoccaggio del 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).
- Il SUREPATH® Preservative Fluid (conservante) contenente campioni citologici da usare nei saggi di amplificazione del DNA BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> e GC Q<sup>x</sup> 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<sup>x</sup>.

#### PROCEDURE

1. Dopo il prelievo del campione con un Rovers Cervex-Brush® o un dispositivo di prelievo equivalente, la testa del dispositivo viene sciacquata direttamente nel fluido, rimossa dall'impugnatura e immersa nella fiala di SUREPATH® Preservative Fluid (conservante). La fiala viene quindi chiusa ermeticamente con il tappo, etichettata e inviata al laboratorio di analisi.

2. Dopo la registrazione delle fiale dei campioni nel laboratorio, collocare ogni fiala nella vaschetta di analisi con una provetta per centrifuga etichettata preriempita con 4 ml di PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità) e un SUREPATH® PreCoat slide (vetrino) etichettato. Per evitare una riduzione del livello di prestazioni, aggiungere PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità) nella provetta prima dell'aggiunta del campione.
3. Mescolare energicamente su vortex ciascuna fiala di campione per 10 - 20 secondi.  
(La 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 le prove ausiliarie prima del pap test conservando ancora volume sufficiente per il pap test. L'aliquotazione può essere eseguita dopo la fase di agitazione su vortex nella procedura per il test SUREPATH® LBC.
  - Per il trasferimento del campione, utilizzare PREPMATE™ Automated Accessory (accessorio automatico) e PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipette di erogazione). Per le istruzioni, consultare il manuale per l'operatore PREPMATE™. **In alternativa,**
  - Rimuovere il tappo della fiala. Tenendo in una mano una SUREPATH® Preservative Vial (fiala di conservante), inserire delicatamente una PREPSTAIN® Syringing Pipette (pipetta di erogazione) nella fiala fino al suo arresto orientando l'estremità della PREPSTAIN® Syringing Pipette (pipetta di erogazione). Capovolgere l'insieme fiala/PREPSTAIN® Syringing Pipette (pipetta di erogazione) nella provetta con PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità) opportunamente numerata. Prima di procedere, lasciar scorrere completamente la soluzione campione fuori dalla PREPSTAIN® Syringing Pipette (pipetta di erogazione). **In alternativa,**
  - Rimuovere il tappo della fiala. Versare lentamente circa 8 ml di campione nel PREPSTAIN® Density Reagent (reagente di densità).
4. Sistemare le provette nei rack di centrifugazione secondo lo schema della sequenza di collocamento riportato nel manuale delle procedure (ciascun rack può contenere 12 provette). La sequenza di collocamento è fondamentale e deve essere controbilanciata.
5. Controbilanciare le provette per centrifuga aggiungendo eventualmente del conservante, quindi centrifugare per 2 minuti a 200 x g.
6. Se viene utilizzato l'aspiratore Easy Aspirator, accendere il sistema dell'aspiratore e regolare la pressione a 225 ± 50 mmHg. Applicare punte pulite all'aspiratore Easy Aspirator.
7. Rimuovere i rack delle provette dalla centrifuga. Abbassare lentamente le punte dell'aspiratore Easy Aspirator (o le pipette per trasferimento monouso) nelle provette di centrifugazione, in modo da aspirare il supernatante. Il dispositivo di aspirazione deve toccare la parte superiore delle provette. Tra un campione e l'altro, sciacquare le punte di aspirazione con acqua.
8. Centrifugare le provette per 10 minuti a 800 x g per concentrare il componente diagnostico in un precipitato cellulare sul fondo della provetta.

9. Rimuovere il rack delle provette dalla centrifuga. Far decantare attentamente e rapidamente nel lavello. Tenendo il rack capovolto, asciugare con cura le provette su carta assorbente assicurandosi che il precipitato cellulare rimanga nelle provette.
10. Etichettare un SUREPATH® PreCoat slide (vetrino) con il numero di ogni campione prestando attenzione a non toccare la superficie del SUREPATH® PreCoat slide (vetrino). Sistemare i vetrini nel rack per vetrini e bloccare una PREPSTAIN® Settling Chamber (camera di sedimentazione) su ciascun vetrino. La posizione di ciascun SUREPATH® PreCoat Slide (vetrino) numerato sul piatto deve corrispondere alla posizione della provetta di centrifugazione corrispondente.
11. Aggiungere 4 ml di acqua deionizzata (pH 7,5 - 8,0) a ciascuna provetta e miscelare su vortex.
12. Procedendo con una provetta di campione alla volta, miscelare la provetta su vortex e trasferire subito 800 µl di sospensione cellulare nella PREPSTAIN® Settling Chamber (camera di sedimentazione) numerata/SUREPATH® PreCoat Slide (vetrino) numerato corrispondente. Ripetere l'operazione per ciascun campione.
13. Attendere 10 minuti per consentire la sedimentazione completa. Al termine della sedimentazione, capovolgere con cura i piatti dei vetrini sul lavello per far decantare il liquido rimanente e asciugare l'eccesso di liquido su carta assorbente.
14. Sciacquare ciascuna PREPSTAIN® Settling Chamber (camera di sedimentazione) con 500 µl di etanolo denaturato e far decantare. Ripetere il risciacquo con alcool e far decantare il liquido residuo, quindi asciugare l'eccedenza di liquido su carta assorbente, lasciando le camere capovolte per almeno 1 minuto.
15. Rimuovere la PREPSTAIN® Settling Chamber (camera di sedimentazione).
16. Colorare i SUREPATH® PreCoat Slide (vetrini) e montare i relativi coprioggetto.

#### RISULTATI E INTERPRETAZIONE

- Tutti i criteri diagnostici attualmente in uso nei laboratori di citologia per i Pap smear convenzionali sono applicabili ai preparati per pap test con base liquida TRIPATH Imaging®, Inc.
- L'eventuale osservazione di screening anomalo o incerto deve essere indirizzata a un tecnico di patologia per l'esame e la diagnosi. Gli eventuali mutamenti della morfologia cellulare sono significativi e devono essere valutati.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TUTTI I DIRITTI RISERVATI

BD, il logo BD e BD Probe Tec sono marchi di fabbrica di Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

# HANDMATIGE METHODE

## Een celpreparatieproces voor gynaecologische toepassingen

REF 490529

REF 490635

### BEOOGD GEBRUIK

#### Voor in-vitrodiagnostiek

De handmatige methode is een methode voor het produceren van celpreparaten op vloeistofbasis (LBP's, Liquid-Based cell Preparations). De handmatige methode is bedoeld als vervanging van de conventionele preparatiemethode voor uitstrijkjes bij het screenen op baarmoederhalskanker.

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<sup>x</sup> en *Neisseria gonorrhoea* (GC) Q<sup>x</sup> 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

Screening op baarmoederhalskanker door middel van de Pap-methode (Papanicolaou) omvat microscopisch onderzoek van celmonsters die hoofdzakelijk zijn genomen van de ecto- en endocervix; deze monsters worden op glazen objectglaasjes uitgestreken en gekleurd door middel van de Pap-procedure.<sup>1,2,3</sup> Dankzij screening op baarmoederhalskanker door middel van het Pap-uitstrijkje is het sterftecijfer van invasieve baarmoederhalskanker met 50 tot 70 procent gedaald.<sup>4</sup> Omdat cervicale cytologie een screeningstest is, moeten abnormale resultaten histologisch worden bevestigd.

Het verzamelen en prepareren van monsters is uitermate belangrijk voor de nauwkeurigheid van Pap-uitstrijkjes. Randomisatie of uniforme subafname is essentieel voor volledige nauwkeurigheid. De conventionele techniek voor uitstrijkjes voorziet niet in het mengen van monsters voorafgaand aan de preparatie van de objectglaasjes. Door het contact van cellen met slijm op het afname-instrument zijn de cellen die daadwerkelijk naar het objectglaasje worden overgebracht, niet representatief voor de totale verzamelde populatie. De cellen worden naar het glaasje overgebracht op basis van hun locatie op het afname-instrument. Veel cellen blijven achter op het instrument.<sup>5</sup>

Aangezien een typisch cervicaal monster niet homogeen is, kan een conventioneel uitstrijkje moeilijk te prepareren, te screenen en te interpreteren zijn. Vaak zijn grote delen van het conventionele objectglaasje bedekt met vuil, ontstekingscellen en epitheelcellen, waardoor waardevol diagnostisch materiaal verborgen is. Als het uitstrijkje na preparatie niet onmiddellijk wordt gefixeerd, kan bovendien de morfologie van de cellen verstoord worden bij het uitdrogen van het uitstrijkje (artefact als gevolg van drogen aan de lucht).

De handmatige methode is een methode voor het omzetten van een vloeibare suspensie van een cervicaal monster in een consistent gekleurd, homogeen SUREPATH®-objectglaasje waarbij de diagnostische celclusters bewaard blijven.<sup>6,7,8,9</sup> Het proces omvat

celconservatie, randomisatie, verrijking van diagnostisch materiaal, pipettering en sedimentatie voor het maken van een celpreparaat. Het resultaat van het preparatieproces is een SUREPATH®-objectglaasje voor gebruik tijdens routinematige cytologiescreening en categorisatie zoals gedefinieerd door het Bethesda-systeem.<sup>10</sup>

### PRINCIPES VAN DE PROCEDURE

De handmatige methode is een procedure voor de preparatie van LBP's van baarmoederhalscellen. Gynaecologische monsters worden verzameld door getraind medisch personeel met behulp van borstelachtige instrumenten (bijvoorbeeld de Cervex-Brush®) of combinatie-instrumenten endocervicale borstel/plastic spatel (bijvoorbeeld de Cytobrush® Plus GT en Pap-Perfect®-spatel, MedScand (VS), Inc.) met afneembare koppen. De kop van de borstel wordt verwijderd van de handgreep en in een potje met SUREPATH® Preservative Fluid (conserveervloeistof) geplaatst. Het potje wordt voorzien van een dop en etiketten en wordt voor verdere verwerking met de juiste documenten naar het laboratorium verstuurd.

In het laboratorium wordt het geconserveerde monster gemengd op een vortexer en overgebracht naar een buisje met PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens). Tijdens een verrijkingstap, bestaande uit centrifugale sedimentatie door middel van PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens), worden niet-diagnostisch vuil en overmatige ontstekingscellen gedeeltelijk uit het monster verwijderd. Na centrifugatie wordt het buisje met de verrijkte celcomponent gereconstitueerd met gedeïoniseerd water en wordt het celmateriaal geresuspendeerd met een pipet, waarbij gebruik wordt gemaakt van een aspireren/afgeven-reeks. Het monstermateriaal wordt vervolgens overgebracht naar een PREPSTAIN® Settling Chamber (bezinkkamer) die is aangebracht op een SUREPATH® PreCoat-objectglaasje. Tijdens een korte incubatieperiode vindt sedimentatie door zwaartekracht plaats. Overtollig materiaal wordt gedecanteerd. Het SUREPATH® PreCoat-objectglaasje wordt gekleurd, gereinigd en afgedekt, waarbij de cellen een cirkel met een diameter van 13 mm vormen. Het SUREPATH®-objectglaasje wordt onderzocht door getrainde cytotechnologen en pathologen in combinatie met andere relevante patiëntgegevens.

### BEPERKINGEN

- Gynaecologische monsters voor preparatie met behulp van de handmatige methode moeten worden verzameld met een borstelachtig instrument conform de standaardmonsterafnameprocedure, die is gespecificeerd door de fabrikant.
- De productie en evaluatie van TRIPATH Imaging®, Inc-preparaten op vloeistofbasis mogen uitsluitend worden uitgevoerd door personeel dat is getraind door TRIPATH of anderen die toestemming hebben van TRIPATH om een dergelijke training te geven.
- Voor een goede werking van het instrument mogen uitsluitend instrumenten worden gebruikt die worden ondersteund of aanbevolen door TRIPATH Imaging®, Inc. Gebruikte instrumenten moeten worden afgevoerd in overeenstemming met de wet- en regelgeving van de instelling en de overheid.
- Alle instrumenten zijn bedoeld voor eenmalig gebruik en kunnen niet worden hergebruikt.
- Er is een volume van 8,0 ± 0,5 mL van het in het SUREPATH®

Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof) verzamelde monster vereist voor het SUREPATH® LBC-testproces.

### WAARSCHUWINGEN

- SUREPATH® Preservative Fluid (conserveervloeistof) bevat een verdunde oplossing van gedenatureerd ethanol en is niet bedoeld voor menselijke consumptie. Het mengsel bevat kleine hoeveelheden methanol en isopropanol, die schadelijk kunnen zijn en blindheid kunnen veroorzaken bij opname door de mond.
- PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens) bevat natriumazide. 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. Voor nadere informatie raadpleegt u de Manual Guide die is uitgegeven door de Centers for Disease Control.<sup>11</sup>

### VOORZORGSMAATREGELEN

- Er moeten correcte laboratoriummethoden worden nageleefd en alle gebruiksprocedures van de handmatige methode moeten strikt in acht worden genomen.
- Alle reagentia blijven tot de aangegeven uiterste gebruiksdatum stabiel, mits de aanbevolen opslagvoorwaarden worden opgevolgd en onderhouden.
- Microbiële contaminatie van reagentia kan leiden tot onjuiste resultaten.
- Substitutie door andere objectglaasjes dan de SUREPATH® PreCoat-objectglaasjes kan leiden tot minder dan optimale resultaten.
- Vermijd spatten en het creëren van aerosolen. Draag geschikte bescherming voor handen, ogen en kleding.
- SUREPATH® Preservative Fluid (conserveervloeistof) is bacteriedodend en is getest op: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* en *Aspergillus niger*. Universele voorzorgsmaatregelen voor de veilige behandeling van biologische vloeistoffen moeten echter te allen tijde worden toegepast.

### 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 verwijderd 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 halfvaste 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<sup>+</sup> en GC Q<sup>+</sup> geamplificeerde DNA-tests raadpleegt u de bijsluiters in de testverpakking die door de fabrikant zijn geleverd.

### BENODIGDE MATERIALEN

#### Meegedeleverde materialen

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (monsterpotje met conserveervloeistof)
- PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (bezinkkamers)
- SUREPATH® PreCoat-objectglaasjes
- Centrifugeerbuisjes
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (injectiepipetten)

- Aspiratietips

#### Benodigde materialen die niet zijn meegeleverd

- Centrifuge
- Glaasjesrekken
- Easy Aspirator (optioneel)
- Verwerkingshouder (optioneel)
- Borstelachtig afname-instrument of endocervicale borstel/plastic spatel met afneembare kop(pen)
- Vortexer
- Precisiepipetten met wegwerptip
- Gedeïoniseerd water (pH 7,5 tot 8,5)
- Isopropanol en alcohol van reagenskwaliteit
- Kleurreagentia
- Reinigingsmiddel, preparatiemedica, dekglaasjes

### OPSLAG

- SUREPATH® Preservative Fluid (conserveervloeistof) zonder cytologische monsters kan maximaal 36 maanden na de productiedatum bij kamertemperatuur (15 °C tot 30 °C) worden bewaard.
- 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<sup>+</sup> en GC Q<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> geamplificeerde DNA-tests.

### PROCEDURES

1. Nadat het monster is verzameld met behulp van een Rovers Cervex-Brush® of een equivalent afname-instrument, wordt de borstelkop onmiddellijk afgespoeld in de vloeistof, van de handgreep genomen en in een potje met SUREPATH® Preservative Fluid (conserveervloeistof) geplaatst. Het potje wordt goed afgesloten, voorzien van etiketten en naar het laboratorium verstuurd.
2. Wanneer de monsterpotjes zijn aangekomen in het laboratorium, moet elk potje in de verwerkingshouder worden geplaatst met een gelabeld centrifugeerbuisje dat vooraf is gevuld met 4 mL PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens) en een gelabeld SUREPATH® PreCoat-objectglaasje. PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens) moet aan het buisje worden toegevoegd voordat het monster wordt toegevoegd; anders neemt de prestatie af.
3. Mix elk monsterpotje krachtig gedurende 10 – 20 seconden. (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, en toch nog over voldoende volume te beschikken voor de Pap-test. Na deze stap met de vortexer in het SUREPATH® LBC-testproces kan een aliquot worden uitgenomen.)

- Gebruik de geautomatiseerde accessoire PREPMATE™ en PREPSTAIN® Syringing Pipettes (injectiepipetten) om het monster over te brengen. Zie de gebruikershandleiding bij de PREPMATE voor instructies. **Of**
  - Verwijder de dop van het potje. Houd een SUREPATH® Preservative Vial (conserveerpotje) in een hand en druk voorzichtig een PREPSTAIN® Syringing Pipette (injectiepipet) in het potje totdat deze stopt, waarbij het uiteinde van de PREPSTAIN® Syringing Pipette (injectiepipet) van uw gezicht weg wijst. Keer het geheel (potje/PREPSTAIN® Syringing Pipette (injectiepipet)) om in het correct genummerde buisje met PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens). Laat alle monsteroplossing uit de PREPSTAIN® Syringing Pipette (injectiepipet) lopen voordat u verder gaat. **Of**
  - Verwijder de dop van het potje. Laat ongeveer 8 mL van het monster op het PREPSTAIN® Density Reagent (dichtheidsreagens) lopen.
4. Plaats de buisjes in de centrifugerekken aan de hand van het plaatsingsvolgordeschema in de procedurehandleiding (elk rek heeft plaats voor 12 buisjes). De plaatsingsvolgorde is uitermate belangrijk en moet uitgebalanceerd zijn.
  5. Breng de centrifugeerbuisjes in evenwicht door, indien nodig, conserveervloeistof toe te voegen en centrifugeer de monsters gedurende 2 minuten bij 200 x g.
  6. Als de Easy Aspirator wordt gebruikt, moet het Easy Aspirator-systeem worden ingeschakeld en moet de druk worden ingesteld op 9 ± 2 inHg (230 ± 50 mmHg). Plaats schone tips op de Easy Aspirator.
  7. Neem de rekken met de centrifugeerbuisjes uit de centrifuge. Laat de Easy Aspirator-tips (of wegwerppipetten) langzaam in de centrifugeerbuisjes zakken om het supernatant te aspireren. Het aspiratie-instrument moet bij voltooiing de bovenzijde van de buisjes raken. Spoel de aspiratortips tussen monsters af met water.
  8. Centrifugeer de buisjes gedurende 10 minuten bij 800 x g om de diagnostische component te concentreren tot een celpellet onder in het buisje.
  9. Neem het rek met de buisjes uit de centrifuge. Decanteer de vloeistof voorzichtig en snel in de wasbak. Houd het rek omgekeerd en droog de buisjes voorzichtig op absorberend papier, maar zorg ervoor dat de celpellet in het buisje blijft.
  10. Voorzie SUREPATH® PreCoat-objectglaasjes van de monsternummers en raak daarbij het oppervlak van de SUREPATH® PreCoat-objectglaasjes niet aan. Plaats de objectglaasjes in een objectglaasjesrek en bevestig een PREPSTAIN® Settling Chamber (bezinkkamer) op elk van de glaasjes. De positie van elk genummerd SUREPATH® PreCoat-objectglaasje op de plaat moet overeenkomen met de positie van het bijbehorende centrifugeerbuisje.
  11. Voeg 4 mL gedeïoniseerd water (pH 7,5 – 8,0) toe aan elk monsterbuisje en meng dit goed met behulp van een vortexer.

12. Werk met één monsterbuisje tegelijkertijd, meng het buisje met behulp van een vortexer en breng onmiddellijk 800 µL celsuspensie over naar de PREPSTAIN® Settling Chamber (bezinkkamer)/het SUREPATH® PreCoat-objectglaasje met het juiste nummer. Herhaal dit voor elk monster.
13. Neem 10 minuten de tijd om een volledige sedimentatie te laten plaatsvinden. Keer de plaat met objectglaasjes na de sedimentatie om boven de wasbak om de resterende vloeistof te decanteren en laat het teveel aan vloeistof wegvloeien op absorberend papier.
14. Spoel elke PREPSTAIN® Settling Chamber (bezinkkamer) af met 500 µL gedestilleerd ethanol en decanteer de vloeistof. Herhaal het spoelen met alcohol en het decanteren van de resterende vloeistof en laat het teveel aan vloeistof wegvloeien op absorberend papier; laat de bezinkkamers minstens 1 minuut omgekeerd staan.
15. Verwijder de PREPSTAIN® Settling Chamber (bezinkkamer).
16. Kleur de SUREPATH® PreCoat-objectglaasjes en voorziet deze van afdekglasjes.

#### RESULTATEN EN INTERPRETATIE

- Alle diagnostische criteria die momenteel worden gebruikt in cytologielaboratoria voor conventionele uitstrijkjes, zijn van toepassing op TRIPATH Imaging®, Inc.-preparaten op vloeistofbasis.
- Alle abnormale of twijfelachtige screeningresultaten moeten worden doorgestuurd naar een patholoog voor verdere analyse en diagnose. Alle cellulaire morfologische wijzigingen zijn van belang en moeten worden vermeld.

#### LITERATUURLIJST

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. *Science* 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. *West J Med* 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. *J Am Med Assoc* 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. *J Am Med Assoc* 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. *Am J Clin Pathol* 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. *Diagn Cytopathol* 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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 RECHTEN VOORBEHOUDEN.

BD, het BD-logo en BD ProbeTec zijn handelsmerken van Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

## MANUEL METODE

### En proces til cellepræparation ved gynækologiske applikationer

REF 490529 REF 490635

#### TILSIGTET BRUG

##### In vitro-diagnostik

Manual Method er en metode til frembringelse af væskebaserede cellepræparater (LBP'er). Manual Method er beregnet som en erstatning for den konventionelle Pap smear-præparationsmetode til brug ved screening for cervical cancer.

SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsvæske) er et egnet indsamlings- og transportmedium til gynækologiske prøver, der er testet med BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> og *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> amplifieret DNA-analyser. Se indlægssedlerne til analyserne for at få oplysninger om, hvordan SurePath® Preservative Fluid (konserveringsvæske) bruges til at klargøre prøver til brug med disse analyser.

#### RESUME OG FORKLARING

Cervikal cytologisk screening efter Papanicolaou-metoden (Pap) omfatter mikroskopisk undersøgelse af celleprøver, der er blevet taget primært fra ecto- og endocervix, strøget ud på objektglas og farvet ved brug af Pap-proceduren.<sup>1,2,3</sup> Cervikal cytologisk screening med Pap smear har nedbragt mortalitetsgraden ved invasiv, cervical carcinoma med 50 til 70 %.<sup>4</sup> Da cervical cytologi er en screeningstest, skal unormale fund bekræftes histologisk.

Prøvetagning og præparation er yderst vigtig for nøjagtigheden ved Pap smears. Randomisering eller ensartet underprøvetagning er væsentlig for fuldstændig nøjagtighed. Den konventionelle teknik ved Pap smear giver ikke mulighed for blanding af prøven forud for udstrykning. På grund af sammenfiltreringen af celler i mucus på prøvetagningsanordningen er de celler, der faktisk overføres til objektglasset, ikke nødvendigvis repræsentative for den totale opsamlede population. Cellerne overføres til objektglasset i forhold til, hvor de tilfældigvis befinder sig på prøvetagningsanordningen. Mange celler bliver tilbage på anordningen.<sup>5</sup>

Den manglende homogenitet ved en typisk cervical prøve kan gøre konventionelle udstrykninger vanskelige at præparere, screene og fortolke. Store områder på et konventionelt objektglas er ofte dækket med debris, inflammatoriske celler og strøg af epitelceller, der kan dække over værdifuldt, diagnostisk materiale. Derudover kan cellulær morfologi blive forvansket, efterhånden som udstrykningen tørrer (lufttøringsartefakt), hvis udstrykningen ikke bliver fikseret umiddelbart efter præparation.

Manual Method er en metode til konvertering af en flydende suspension af en cervical prøve til et ensartet farvet, homogent SUREPATH®-objektglas, medens diagnostiske celleklynger bibeholdes.<sup>6,7,8,9</sup> Processen omfatter cellefiksering, randomisering, berigelse af diagnostisk materiale, pipettering og sedimentering for at skabe et cellulært præparat. Resultatet af præparationsprocessen er et SUREPATH®-objektglas til brug ved rutinemæssig cytologisk screening og kategorisering som defineret af Bethesda System.<sup>10</sup>

#### PROCEDURENS PRINCIPPER

Manual Method er en procedure til præparation af LBP'er i cervikale celler. Gynækologiske prøver tages af uddannet medicinsk personale ved brug af anordninger af børstetypen (f.eks. Cervex-Brush®) eller en endocervikal børste/plastspatel (f.eks. Cytobrush® Plus GT og Pap-Perfect®-spatel fra MedScand (USA), Inc.) med aftageligt hoved. Hovedet på børsten fjernes fra håndtaget og anbringes i et hætteglas med SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsvæske). Der sættes låg og etiket på hætteglasset, hvorefter det sendes med tilhørende dokumenter til laboratoriet til behandling.

På laboratoriet blandes den fikserede prøve efter vortex-metoden og overføres til et reagensglas indeholdende PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens). Et berigelsestrin, bestående af centrifugal sedimentering gennem PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens), fjerner delvis ikke-diagnostisk debris og overskydende inflammatoriske celler fra prøven. Efter centrifugering bliver reagensglasset, der indeholder den berigede cellulære komponent, rekonstitueret med deioniseret vand, og det cellulære materiale resuspenderes med en pipette ved brug af en en aspirerings-/dispenseringssekvens. Prøvematerialet overføres derefter til et PREPSTAIN® Settling Chamber (bundfældningskammer) monteret på et SUREPATH® PreCoat-objektglas. Tyngdekraftsedimentering forekommer under en kort inkubation. Overskydende materiale dekanteres. SUREPATH® PreCoat-objektglasset farves, renses og får dækglass på, med cellerne anbragt i en cirkel på 13 mm i diameter. SUREPATH®-objektglasset undersøges af uddannede cytoteknikere og patologer i forbindelse med anden relevant patientinformation.

#### BEGRÆNSNINGER

- Gynækologiske prøver til præparation med Manual Method bør tages ved hjælp af en anordning af børstetypen i henhold til producentens standardprøvetagningsprocedure.
- Fremstillingen og evalueringen af væskebaserede præparater fra TRIPATH Imaging®, Inc bør kun udføres af personale, der er blevet uddannet af TRIPATH eller andre, der er autoriserede af TRIPATH til at give en sådan uddannelse.
- Korrekt ydeevne af anordningen kræver, at der udelukkende bruges de artikler, der understøttes af TRIPATH Imaging®, Inc eller anbefales af TRIPATH Imaging®, Inc. Brugte artikler skal bortskaffes korrekt i henhold til institutionelle eller statslige regler.
- Alle artikler er kun til engangsbrug og kan ikke genanvendes.
- 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.

#### ADVARSLER

- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsvæske) indeholder en fortyndet opløsning af denatureret ethanol og er ikke beregnet til human fortæring. Blandingen indeholder små mængder methanol og isopropanol, hvilke kan være skadelige og medføre blindhed, hvis de indtages.
- PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) indeholder natriumazid. Natriumazid kan reagere med bly- eller kobberør og danne yderst eksplosive metalazider. Ved bortskaffelsen skyldes

med store mængder vand for at forhindre ophobning af azid. For yderligere information henvises der til Manual Guide udgivet af Centers for Disease Control<sup>11</sup>.

#### FORHOLDSREGLER

- Det forventes, at god laboratoriepraksis overholdes, og at alle procedurer ved brug af Manual Method vil blive nøje overholdt.
- Alle reagenser er stabile indtil den angivne udløbsdato, hvis de anbefalede opbevaringsbetingelser følges og opretholdes.
- Mikrobiel kontaminering af reagenser kan give ukorrekte resultater.
- Substitution af andre end SUREPATH® PreCoat-objektglas kan resultere i mindre end optimale resultater.
- Undgå plasken eller generering af aerosoler. Anvend passende hånd-, øjen- og beklædningsbeskyttelse.
- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsvæske) er baktericid og er blevet testet overfor: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* og *Aspergillus niger*. Universelle forsigtighedsregler for sikker håndtering af biologiske væsker skal imidlertid altid overholdes.

#### 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 til klargøring af en tilfredsstillende 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

1. 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.
2. 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 halvfaste 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<sup>+</sup> og GC Q<sup>+</sup> amplifieret DNA-analyse findes på indlægssedlerne fra producenten af analysen.

## NØDVENDIGE MATERIALER

### Vedlagte materialer

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske)
- PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (bundfældningskammer)
- SUREPATH® PreCoat-objektglas
- Centrifugeglas
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter)
- Sugespids

### Nødvendige materialer, der ikke er vedlagt

- Centrifuge
- Objektglasstativer
- Easy Aspirator (ekstraudstyr)
- Behandlingsbakke (ekstraudstyr)
- Børstelignende prøvetagningsanordning eller endocervikal børste/plastspatle med aftageligt hoved.
- Vortex Mixer
- Præcisionspipetter med engangsspids
- Deioniseret vand (pH 7,5 til 8,5)
- Isopropanol og alkohol af reagentstype
- Farvningsreagenser
- Rensemiddel, monteringsmedia, dækglas

## OPBEVARING

- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsvæske) uden cytologiske prøver kan opbevares ved stuetemperatur (15 °C til 30 °C) i op til 36 måneder fra fremstillingsdatoen.
- 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<sup>+</sup> og GC Q<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> amplifieret DNA-analyser.

## PROCEDURER

1. Efter at prøven er taget ved anvendelse af en Rovers Cervex-Brush® eller tilsvarende prøvetagningsanordning, skylles børstehovedet direkte ned i væsken, fjernes fra håndtaget og anbringes i et SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (opsamlingshætteglas til konserveringsvæske). Der sættes låg og etiket på hætteglasset, hvorefter det sendes til laboratoriet.
2. Når hætteglas med prøver har fået adgang til laboratoriet, anbringes hvert hætteglas i behandlingsbakken med et centrifugeglas med etiket, der på forhånd er fyldt med 4 mL PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) og et SUREPATH® PreCoat-objektglas med etiket. PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) skal tilsættes glasset, inden prøven bliver tilsat, ellers forringes ydeevnen.
3. Hvert prøveglas vortexes kraftigt i 10-20 sekunder. (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 og stadig være i stand til at foretage en PapTest. Udtagningen af aliquoten kan foretages efter dette omrystningstrin i SUREPATH® LBC-testprocessen).
  - Anvend PREPMATE™ Automated Accessory og PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter) til at overføre prøven. Se PREPMATE™-brugervejledningen for at få instruktioner. **eller**
  - Fjern hættens på hætteglasset. Hold et SUREPATH® Preservative Vial (konserverende hætteglas) i den ene hånd, og skub forsigtigt en PREPSTAIN® Syringing Pipette (sprøjtepipette) ind i hætteglasset, indtil det stopper, idet enden af PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter) skal pege væk fra ansigtet. Invertér samlingen af hætteglas og PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter) i de dertil nummererede PREPSTAIN® Density Reagent-glas (densitetsreagensglas). Lad hele prøveopløsningen løbe ud af PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprøjtepipetter), inden der fortsættes. **eller**
  - Fjern hættens på hætteglasset. Hæld langsomt cirka 8 mL af prøven på PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens).
4. Anbring glassene i centrifugestativerne i henhold til diagrammet for placeringssekvensen i procedurevejledningen (hvert glasstativ har en kapacitet på 12 glas). Placeringssekvensen er afgørende og skal være afbalanceret.

5. Centrifugeglassene afbalanceres om nødvendigt ved tilsætning af konserveringsvæske. Centrifuger prøverne i 2 minutter ved 200 x g.
6. Hvis Easy Aspirator anvendes, tændes der for Easy Aspirator-systemet, og trykket justeres til  $9 \pm 2$  i Hg. Anbring rene spidser på Easy Aspirator-aspiratoren.
7. Fjern stativerne med centrifugeglas fra centrifugen. Sænk langsomt Easy Aspirator-spidserne (eller engangspipetterne) ned i centrifugeglassene for at aspirere supernatant. Aspirationsanordningen skal berøre toppen af glassene, når du er færdig. Skyl aspiratorspidserne med vand mellem prøver.
8. Centrifuger glassene i 10 minutter ved 800 x g for at koncentrere den diagnostiske komponent til en lille cellekugle i bunden af glasset.
9. Fjern glasstativet fra centrifugen. Dekanter forsigtigt og hurtigt ned i vasken. Mens stativet holdes omvendt, aftrykkes glassene omhyggeligt på absorberende papir, idet du sikrer dig, at den lille cellekugle bliver i glasset.
10. Et SUREPATH® PreCoat-objektglas etiketteres med hvert prøvenummer, idet man passer på ikke at berøre overfladen på SUREPATH® PreCoat-objektglasset. Anbring objektglassene i holderen og lås et PREPSTAIN® Settling Chamber (bundfældningskammer) på hvert objektglas. Positionen af hvert nummereret SUREPATH® PreCoat-objektglas på pladen skal passe sammen med positionen af det tilsvarende centrifugeglas.
11. Tilsæt 4 mL deioniseret vand (pH 7,5-8,0) til hvert prøveglas, og bland grundigt ved hjælp af vortexing.
12. Arbejd med ét prøveglas ad gangen, vortex glasset og overfør med det samme 800 µl cellesuspension til det tilsvarende nummererede PREPSTAIN® Settling Chamber (bundfældningskammer)/SUREPATH® PreCoat-objektglas. Dette gentages for hver prøve.
13. Vent i 10 minutter, for at der kan ske fuld sedimentering. Efter sedimentering vendes objektglaspladen(erne) over vasken for at dekantere den resterende væske. Aftryk overskydende væske på absorberende papir.
14. Skyl hvert PREPSTAIN® Settling Chamber (bundfældningsglas) med 500 µl denatureret ethanol, og dekantér. Gentag alkoholskyllingen, dekantér den tilbageblevne væske, og aftryk overskydende væske på absorberende papir, idet de forbliver omvendte i mindst 1 minut.
15. Fjern PREPSTAIN® Settling Chamber (bundfældningskammer).
16. Farv og kom dækglas på SUREPATH®-objektglassene.

## RESULTATER OG FORTOLKNING

- Alle diagnostiske kriterier, der for øjeblikket anvendes på cytologiske laboratorier til konventionelle Pap smears, er gældende for TRIPATH Imaging®, Inc. væskebaserede præparationer.
- Alle unormale eller tvivlsomme screeningsobservationer bør henvises til en patolog til gennemsyn og diagnose. Enhver ændring i cellulær morfologi er signifikant og bør noteres.

## BIBLIOGRAFI

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

### Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

BD, BD-logoet og BD ProbeTec er varemærker tilhørende Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

## MÉTODO MANUAL

### Um processo de preparação de células para aplicações ginecológicas

REF 490529 REF 490635

### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

#### Para Utilização em Diagnóstico In Vitro

O Manual Method é um método para produzir preparações de células em base líquida (LBPs). Este método vem substituir o método de preparação de esfregaço convencional utilizado no rastreio do cancro do colo do útero.

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<sup>+</sup> e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup>. Consulte os folhetos informativos dos testes para obter instruções sobre a utilização do SUREPATH® Preservative Fluid na preparação de amostras para utilização com estes testes.

### RESUMO E EXPLICAÇÃO

O rastreio citológico do colo do útero através do método de Papanicolaou consiste na análise microscópica de amostras de células retiradas principalmente das regiões ectocervical e endocervical, e com as quais se efectuou um esfregaço em lâmina de vidro com posterior coloração de Papanicolaou.<sup>1,2,3</sup> O rastreio citológico do colo do útero permitiu reduzir 50 a 70 por cento as taxas de mortalidade devido a carcinoma cervical invasivo.<sup>4</sup> Uma vez que a citologia cervical constitui um exame de rastreio, quaisquer resultados anormais devem ser confirmados histologicamente.

A colheita e a preparação das amostras são de extrema importância para a qualidade dos esfregaços citológicos. A amostragem aleatória ou a sub-amostragem uniforme é essencial para uma exactidão máxima. A técnica de esfregaço citológico convencional não permite a homogeneização da amostra antes da preparação das lâminas. As células transferidas para a lâmina podem não ser representativas da população total colhida, pois muitas células ficam “presas” no muco no dispositivo amostragem. As células são transferidas para a lâmina em relação ao local onde se encontram no dispositivo de amostragem. Muitas células ficam no dispositivo.<sup>5</sup>

A falta de homogeneidade de uma amostra cervical típica pode dificultar a preparação, leitura e interpretação dos esfregaços convencionais. Grandes áreas da lâmina convencional estão frequentemente cobertas por detritos, células inflamatórias e camadas de células epiteliais que podem ocultar material de diagnóstico valioso. Além disso, se o esfregaço não for imediatamente fixado após a preparação, a morfologia celular pode ficar distorcida à medida que a lâmina vai secando (artefacto da secagem ao ar).

O Manual Method é um método que permite converter uma suspensão líquida de uma amostra cervical numa lâmina SUREPATH® homogénea com uma coloração consistente, que preserva os agrupamentos celulares para diagnóstico.<sup>6,7,8,9</sup> O processo inclui a conservação das células, amostragem aleatória, enriquecimento do material de diagnóstico, pipetagem e sedimentação para a criação de uma preparação celular. O resultado deste procedimento é uma lâmina SUREPATH®, para utilização no rastreio citológico de rotina e

classificação por categorias, de acordo com a classificação do sistema Bethesda.<sup>10</sup>

### PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Manual Method é um procedimento para a preparação de células cervicais em base líquida (LBPs). As amostras ginecológicas são recolhidas por pessoal médico qualificado utilizando dispositivos tipo escova (por ex., Cervex-Brush®) ou uma combinação de dispositivos de espátula plástica e escovas endocervicais (por ex., Cytobrush® Plus GT e espátula Pap-Perfect®, MedScand (USA), Inc.) com cabeças amovíveis. A cabeça da escova é destacada e colocada num frasco de SUREPATH® Preservative Fluid (Fluido Conservante). O frasco é tapado, etiquetado e enviado com os documentos necessários para processamento no laboratório.

No laboratório, a amostra preservada é homogeneizada por meio de vórtex e depois transferida para um tubo contendo PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade). Um passo de enriquecimento celular, que consiste na sedimentação centrífuga através do reagente PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade), remove parcialmente da amostra os resíduos sem valor diagnóstico e as células inflamatórias em excesso. Após a centrifugação, o tubo que contém o componente celular enriquecido é reconstituído com água desionizada e o material celular é novamente colocado em suspensão com um pipetador, empregando uma sequência de aspiração/distribuição. A amostra é então transferida para uma câmara de incubação PREPSTAIN® Settling Chamber (Câmara de Incubação) montada sobre uma lâmina previamente revestida SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida). A sedimentação por gravidade ocorre durante um curto período de incubação. O material em excesso é decantado. A lâmina BD SurePath® PreCoat (Previamente Revestida) é corada, limpa e protegida com uma lamela, ficando as células dispostas num círculo de 13 mm de diâmetro. A lâmina SUREPATH® Slide é examinada por técnicos de citologia e patologistas experientes e analisada juntamente com outras informações relevantes da paciente.

### LIMITAÇÕES

- As amostras ginecológicas para preparação utilizando o Manual Method devem ser colhidas utilizando um dispositivo tipo escova de acordo com o procedimento de colheita normal indicado pelo fabricante.
- A produção e avaliação das preparações de base líquida TRIPATH Imaging®, Inc devem ser realizadas apenas por pessoal com formação ministrada pela TriPath ou por outros agentes autorizados pela TriPath a dar essa formação.
- O correcto funcionamento do dispositivo requer a utilização exclusiva de material fornecido pela TRIPATH Imaging®, Inc, ou recomendado pela TRIPATH Imaging®, Inc. O material utilizado deve ser correctamente descartado 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.

### ADVERTÊNCIAS

- SUREPATH® Preservative Fluid (Fluido Conservante) contém uma solução diluída de etanol desnaturado e não se destina ao consumo humano. A mistura contém pequenas quantidades de metanol e isopropanol que pode ser prejudicial e causar cegueira quando ingerido.
- O reagente PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade) contém azida de sódio. 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 obter mais informações, consulte o Manual Guide publicado pelos Centers for Disease Control<sup>11</sup>.

### PRECAUÇÕES

- Devem ser adoptadas boas práticas laboratoriais e todos os procedimentos para utilização do Manual Method devem ser rigorosamente respeitados.
- Todos os reagentes permanecem estáveis até aos prazos de validade indicados, desde que as condições de armazenamento recomendadas sejam respeitadas e mantidas.
- A contaminação microbiana dos reagentes pode dar origem a resultados falseados.
- A substituição por outras lâminas que não as lâminas SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida) pode reduzir a qualidade dos resultados.
- Evite salpicar ou gerar aerossóis. Utilizar equipamento protector adequado para as mãos, olhos e vestuário.
- SUREPATH® Preservative Fluid (Fluido Conservante) é bactericida e foi testada para verificar a existência de: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis*, and *Aspergillus niger*. Contudo, devem ser sempre adoptadas precauções universais para o manuseamento seguro de fluidos biológicos.

## 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

1. 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.
2. 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<sup>x</sup> e GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays, consulte os Folhetos Informativos dos testes fornecidos pelo fabricante.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS

### Material Fornecido

- Frasco de colheita SurePath® Preservative Fluid Collection Vial
- Reagente PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (Câmaras de Incubação)
- Lâminas SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestidas)
- Tubos de Centrifugação
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa)
- Pontas de Aspiração

### Material Necessário Mas Não Fornecido

- Centrífuga
- Suportes de lâminas
- Aspirador Easy Aspirator (opcional)
- Tabuleiro de processamento (opcional)
- Dispositivo de amostragem do tipo escova ou escova/espátula plástica endocervical com cabeça(s) amovível(eis)
- Agitador vórtex
- Pipetas de precisão com pontas descartáveis
- Água desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- Isopropanol e álcool com grau adequado para reagente
- Reagentes de coloração
- Agente de limpeza, meio de montagem, lamelas

### CONSERVAÇÃO

- SUREPATH® Preservative Fluid (Fluido Conservante) sem amostras citológicas pode ser conservado à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) até 36 meses, a contar da data de fabrico.
- O limite de conservação do SUREPATH® Preservative Fluid (Fluido Conservante) com amostras citológicas é de 6 meses refrigerado (2 °C a 10 °C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15 °C 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<sup>x</sup> e GC Q<sup>x</sup> Amplified DNA Assays podem ser conservados e transportados durante um máximo de 30 dias a temperaturas entre -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<sup>x</sup> Amplified DNA Assays.

### PROCEDIMENTOS

1. Uma vez colhida a amostra utilizando uma Rovers Cervex-Brush® ou um dispositivo de amostragem equivalente, a cabeça da escova é lavada directamente no fluido, retirada do cabo e deitada num frasco de conservante SUREPATH® Preservative Fluid vial (Frasco de Fluido Conservante). Em seguida, o frasco é fechado, etiquetado e enviado para o laboratório.
2. Quando os frascos com amostra derem entrada no laboratório, coloque cada um deles no tabuleiro de processamento com um tubo de centrifugação etiquetado previamente cheio com 4 ml de PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade) e uma lâmina etiquetada SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida). O reagente PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente

de Densidade) deve ser adicionado ao tubo antes de adicionar a amostra, sob pena de reduzir o desempenho da técnica.

3. Cada um dos frascos deve ser vigorosamente agitado num vórtex durante 10 a 20 segundos.  
(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, ao mesmo tempo que o volume restante é suficiente para a execução do teste Pap. A remoção de alíquotas pode ser executada após a passagem pelo vórtex no processo do teste SUREPATH® LBC.)
  - Utilize o acessório PREPMATE™ Automated Accessory (Acessório Automatizado) e as pipetas PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa) para transferir a amostra. Para instruções, consulte o PREPMATE™ Operators Manual (Manual de Instruções). **Ou**
  - Retire a tampa do frasco. Segure num frasco de SUREPATH® Preservative Vial com uma das mãos, introduza cuidadosamente as pipetas PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa) no frasco até parar, apontando a extremidade das PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa) na direcção contrária à sua cara. Inverta o conjunto frasco/PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa) para dentro do tubo de PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade) devidamente numerado. Deixe escoar completamente toda a solução de amostra das PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Pipetas com Efeito de Seringa) antes de prosseguir. **Ou**
  - Retire a tampa do frasco. Deite lentamente cerca de 8 ml de amostra sobre o PREPSTAIN® Density Reagent (Reagente de Densidade).
4. Coloque os tubos nos suportes da centrífuga de acordo com o diagrama da sequência de colocação no Manual de Procedimento (cada suporte para tubos tem capacidade para 12 tubos). A sequência de colocação é essencial e tem de ser equilibrada.
5. Equilibre os tubos de centrifugação acrescentando Preservative Fluid se for necessário, e centrifugue as amostras durante 2 minutos a 200 x g.
6. Se o Easy Aspirator for utilizado, ligue este sistema e regule a pressão para 9 ± 2 em Hg. Coloque pontas limpas no aspirador Easy Aspirator.
7. Retire os suportes dos tubos de centrifugação da centrífuga. Desça lentamente as pontas do Easy Aspirator (ou pipetas de transferência descartáveis) para dentro dos tubos de centrifugação para aspirar o sobrenadante. O dispositivo de aspiração deve tocar no topo dos tubos quando acabar. Passe por água as Pontas do aspirador entre amostras.
8. Centrifugue os tubos durante 10 minutos a 800 x g de modo a concentrar o componente de diagnóstico num aglomerado de células no fundo do tubo.

9. Retire o suporte de tubos da centrífuga. Decante de forma rápida e cuidadosa para o lavatório. Mantenha o suporte invertido, empape os tubos cuidadosamente com papel absorvente, certificando-se de que o aglomerado de células se mantém no tubo.
10. Rotule uma lâmina SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida) com o número da amostra, tendo o cuidado de não tocar na superfície da mesma. Coloque as lâminas no Suporte de Lâminas e prenda uma câmara PREPSTAIN® Settling Chamber (Câmara de Incubação) a cada lâmina. A posição de cada lâmina SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida) numerada na bandeja deve corresponder à posição do tubo de centrifugação correspondente.
11. Adicione 4 ml de água desionizada (pH 7,5-8,0) a cada tubo de amostra e misture bem utilizando para isso um vórtex.
12. Trabalhando com um tubo de amostra de cada vez, coloque o tubo em vórtex e transfira imediatamente 800 µl de suspensão celular para a câmara PREPSTAIN® Settling Chamber (Câmara de Incubação)/lâmina SUREPATH® PreCoat (Previamente Revestida) com a numeração correspondente. Repita o procedimento para cada uma das amostras.
13. Deixe passar 10 minutos para permitir a sedimentação completa. Após a sedimentação, inverta cuidadosamente a(s) bandeja(s) de lâminas sobre o lavatório para decantar o fluido remanescente e empape o líquido em excesso com papel absorvente.
14. Lave cada uma das câmaras PREPSTAIN® Settling Chamber (Câmara de Incubação) com 500 µl de etanol desnaturado e decante. Repita a lavagem com álcool, decante o fluido remanescente e empape o líquido em excesso com papel absorvente, mantendo-as invertidas durante pelo menos um minuto.
15. Retire as câmaras de incubação PREPSTAIN® Settling Chamber (Câmara de Incubação).
16. Proceda à coloração das lâminas SUREPATH® Slides.

#### RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

- Todos os critérios de diagnóstico actualmente utilizados nos laboratórios de citologia para os esfregaços citológicos convencionais se aplicam às preparações de base líquida TRIPATH Imaging®, Inc.
- Quaisquer observações de rastreio anómalas ou questionáveis devem ser comunicadas a um patologista para análise e diagnóstico. Quaisquer alterações morfológicas celulares são significativas e devem ser anotadas.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS.

BD, BD Logo e BD ProbeTec são marcas comerciais da Becton, Dickerson and Company. © 2011 BD

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 10033430534  
Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555654

## ΧΕΙΡΟΚΙΝΗΤΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

**Μια διαδικασία κυτταρικών παρασκευασμάτων για γυναικολογική εφαρμογή**

**REF 490529 REF 490635**

### ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΟΝΤΑΙ

#### Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Η χειροκίνητη μέθοδος αποτελεί μια μέθοδο παραγωγής κυτταρικών παρασκευασμάτων με υγρή βάση (LBP).

Η χειροκίνητη μέθοδος προορίζεται για αντικατάσταση της παραδοσιακής μεθόδου προετοιμασίας επιχρίσματος Παπανικολάου για χρήση στην προληπτική εξέταση για καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

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<sup>+</sup> και *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup>. 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

Η κυτταρολογική εξέταση του τραχήλου της μήτρας με τη μέθοδο Παπανικολάου (τεστ ΠΑΠ) περιλαμβάνει τη μικροσκοπική εξέταση δειγμάτων από κυτταρικό υλικό που έχει ληφθεί κυρίως από τον έξω- και ενδο-τράχηλο, έχει επιστρωθεί σε γυάλινες αντικειμενοφόρους πλάκες και έχει υποστεί χρώση με τη διαδικασία κατά Παπανικολάου.<sup>1,2,3</sup> Ο μαζικός προσυμπτωματικός έλεγχος για το καρκίνο του τραχήλου της μήτρας με το επίχρισμα Παπανικολάου, έχει μειώσει τα ποσοστά θνησιμότητας των διηθητικών καρκινωμάτων του τραχήλου κατά 50 ως 70%.<sup>4</sup> Καθώς η κυτταρολογική εξέταση του τραχήλου αποτελεί μορφή προσυμπτωματικού ελέγχου, τα μη φυσιολογικά ευρήματα θα πρέπει να επιβεβαιώνονται ιστολογικά.

Η συλλογή και η προετοιμασία δειγμάτων είναι εξαιρετικά σημαντικές για την διαγνωστική ακρίβεια στα επιχρίσματα Παπανικολάου. Για πλήρη διαγνωστική ακρίβεια, είναι απαραίτητη η τυχαίοποίηση ή η ομοιομορφία στην υπο-δειγματοληψία του υλικού. Η παραδοσιακή τεχνική επιχρίσματος Παπανικολάου δεν επιτρέπει την ανάμειξη του δείγματος πριν την προετοιμασία της αντικειμενοφόρου πλάκας. Λόγω της ανάμειξης των κυττάρων με βλέννα πάνω στη συσκευή δειγματοληψίας, τα κύτταρα που ουσιαστικά μεταφέρονται στην αντικειμενοφόρο πλάκα ενδέχεται να μην είναι αντιπροσωπευτικά για το σύνολο του κυτταρικού πληθυσμού που συλλέχθηκε. Η θέση επί της αντικειμενοφόρου πλάκας όπου μεταφέρονται τα κύτταρα είναι ανάλογη της θέσης που έτυχε να βρίσκονται επί της συσκευής δειγματοληψίας. Πολλά κύτταρα παραμένουν στη συσκευή.<sup>5</sup>

Η ανομοιογένεια του συνήθους τραχηλικού δείγματος μπορεί να καταστήσει δύσκολη την προετοιμασία και την ανάλυση των παραδοσιακών επιχρισμάτων, καθώς και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης. Μεγάλες περιοχές της παραδοσιακής αντικειμενοφόρου πλάκας συχνά καλύπτονται από υπολείμματα, φλεγμονώδη κύτταρα και επιθηλιακά φύλλα, που μπορούν να αποκρύψουν πολύτιμο διαγνωστικό υλικό. Επιπλέον, αν το επίχρισμα δεν σταθεροποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία, η κυτταρική

μορφολογία ενδέχεται να παραμορφωθεί κατά την ξήρανση του επιχρίσματος (τεχνούργημα από ξήρανση στον αέρα).

Η χειροκίνητη μέθοδος αποτελεί μέθοδο μετατροπής ενός υγρού εναιωρήματος του τραχηλικού δείγματος σε ομοιομορφα χρωματισμένη, ομοιογενή αντικειμενοφόρο πλάκα SUREPATH®, ενώ διατηρεί τα διαγνωστικά κυτταρικά σμήνη.<sup>6,7,8,9</sup> Η διαδικασία περιλαμβάνει συντήρηση των κυττάρων, τυχαίοποίηση, εμπλουτισμό του διαγνωστικού υλικού, δειγματοληψία με πιπέτα και καθίζηση με σκοπό τη δημιουργία του κυτταρικού παρασκευάσματος. Το αποτέλεσμα της διαδικασίας παρασκευής είναι η δημιουργία μιας αντικειμενοφόρου πλάκας SUREPATH®, η οποία προορίζεται για χρήση στο μαζικό προσυμπτωματικό έλεγχο της κυτταρολογίας του τραχήλου και για κατηγοριοποίηση των αποτελεσμάτων, όπως ορίζεται από το Σύστημα Bethesda.<sup>10</sup>

#### ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η χειροκίνητη μέθοδος αποτελεί διαδικασία για την προετοιμασία LBP τραχηλικών κυττάρων. Η συλλογή των γυναικολογικών δειγμάτων γίνεται από εξειδικευμένο ιατρικό προσωπικό, με τη χρήση συσκευών δειγματοληψίας τύπου σκούπας (π.χ. Cervex Brush®) ή συνδυασμού πλαστικής σπάτουλας και συσκευών ενδοτραχηλικής ψήκτρας (π.χ. Cytobrush® Plus GT και σπάτουλα Pap Perfect®, MedScand (HITA), Inc.) με αποσπώμενες κεφαλές. Η κεφαλή της βούρτσας αφαιρείται από τη λαβή και τοποθετείται σε φιαλίδιο με υγρό συντήρησης SUREPATH® Preservative Fluid. Το φιαλίδιο ποματίζεται, σημαίνεται και αποστέλλεται με τα κατάλληλα συνοδευτικά έγγραφα στο εργαστήριο για επεξεργασία.

Στο εργαστήριο, το διατηρημένο δείγμα αναμειγνύεται με στροβιλισμό και μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας). Ένα βήμα εμπλουτισμού που συνίσταται από φυγοκεντρική καθίζηση μέσω του PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας), αφαιρεί εν μέρει τα μη διαγνωστικά υπολείμματα και την περίσσεια φλεγμονωδών κυττάρων από το δείγμα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ο σωλήνας που περιέχει το εμπλουτισμένο κυτταρικό στοιχείο ανασυντίθεται με απιονισμένο νερό και το κυτταρικό υλικό υφίσταται επαναιώρηση με διαδοχή αναρρόφησης/αποβολής ή με χρήση πιπέτας. Το υλικό του δείγματος στη συνέχεια μεταφέρεται σε PREPSTAIN® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης) στερεωμένο σε SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα). Κατά τη διάρκεια σύντομης επώασης προκύπτει καθίζηση λόγω βαρύτητας. Η περίσσεια του υλικού απορρίπτεται. Η πλάκα SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα) χρωματίζεται, διανύγεται και καλύπτεται με καλυπτρίδα, με τα κύτταρα σε σχήμα κύκλου, διαμέτρου 13 mm. Η αντικειμενοφόρος πλάκα SUREPATH® Slide ξεθολάζεται από εκκαιδευμένους κυτταροτεχνολόγους και παθολόγους σε συνδυασμό με άλλες σχετικές πληροφορίες που αφορούν τον ασθενή.

#### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Τα γυναικολογικά δείγματα για προετοιμασία με χρήση της χειροκίνητης μεθόδου πρέπει να συλλέγονται με συσκευή τύπου βούρτσας σύμφωνα με την τυπική διαδικασία συλλογής που περιγράφεται από τον κατασκευαστή.
- Η παραγωγή και αξιολόγηση των υγρών παρασκευασμάτων της TriPATH Imaging®, Inc πρέπει να εκτελείται μόνο από προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί από την TriPATH ή από τρίτους που έχουν εξουσιοδοτηθεί από την TriPATH να παρέχουν τέτοιου είδους εκπαίδευση.

- Η σωστή απόδοση της συσκευής προϋποθέτει τη χρήση μόνο εκείνων των αναλώσιμων που υποστηρίζονται από την TriPATH Imaging®, Inc. ή που συνιστώνται από την TriPATH Imaging®, Inc. Τα αναλώσιμα που έχουν χρησιμοποιηθεί πρέπει να απορρίπτονται κατά τα δέοντα σύμφωνα με τους θεσμικούς και κυβερνητικούς κανονισμούς.
- Όλα τα υλικά είναι μόνο μίας χρήσης και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ξανά.
- Για τη διαδικασία ελέγχου LBC SUREPATH® απαιτείται όγκος 8,0 ± 0,5 mL του δείγματος που έχει συλλεχθεί στο SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης).

#### ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ

- Το SUREPATH® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) περιέχει αραωτικό διάλυμα μετουσιωμένης αιθανόλης και δεν προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση. Το μίγμα περιέχει μικρές ποσότητες μεθανόλης και ισοπροπανόλης που ενδέχεται να είναι επιβλαβείς και να προκαλέσουν υπόφωση σε περίπτωση κατάποσης.
- Το PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας) περιέχει νατραζίδιο. Το νατραζίδιο ενδέχεται να αντιδρά με μολύβδινες ή χάλκινες υδραυλικές εγκαταστάσεις και να σχηματίζει πολύ εκρηκτικά μεταλλικά αζωτίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με μεγάλες ποσότητες νερού για να εμποδίσετε τη συσσώρευση αζωτιδίων. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στο Manual Guide που εκδίδεται από τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Ασθενειών<sup>11</sup>.

#### ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Εξυπακούεται ότι εφαρμόζονται οι ενδεδειγμένες εργαστηριακές πρακτικές και τηρούνται αυστηρά όλες οι διαδικασίες χρήσης της χειροκίνητης μεθόδου.
- Όλα τα αντιδραστήρια παραμένουν σταθερά μέχρι την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης, υπό τον όρο ότι ακολουθούνται και διατηρούνται οι συνιστώμενες συνθήκες αποθήκευσης.
- Η μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων ενδέχεται να έχει ως αποτέλεσμα λανθασμένα αποτελέσματα.
- Η αντικατάσταση των πλακών SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρο πλάκες) με άλλες ενδέχεται να οδηγήσει σε υποδεέστερα αποτελέσματα από τα βέλτιστα.
- Αποφεύγετε τους πλαταγισμούς ή τη δημιουργία αερολυμάτων. Χρησιμοποιείτε την κατάλληλη προστασία για τα χέρια, τα μάτια και το ρουχισμό.
- Το SUREPATH® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) είναι βακτηριοκτόνο και έχει δοκιμαστεί έναντι: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis*, και *Aspergillus niger*. Ωστόσο, πρέπει να τηρούνται πάντα οι γενικές προφυλάξεις για τον ασφαλή χειρισμό βιολογικών υγρών.

#### ΠΡΟΑΙΡΕΤΙΚΗ ΑΦΑΙΡΕΣΗ ΚΛΑΣΜΑΤΟΣ

Στο SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) υπάρχει αρκετή ποσότητα όγκος ώστε να είναι δυνατή η αφαίρεση έως και 0,5 mL ομογενούς μίγματος κυττάρων και υγρού για συμπληρωματικό έλεγχο πριν από το SurePath® Pap Test (Τεστ Παπανικολάου) ενώ εξακολουθεί να υπάρχει επαρκής ποσότητα για τεστ Παπανικολάου.

Παρόλο που 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 λανθασμένης κατανομής του σχετικού διαγνωστικού υλικού.

Οι παροχές υγειονομικής περίθαλψης ενδεχομένως να πρέπει να λάβουν νέο δείγμα εάν τα αποτελέσματα δεν σχετίζονται με το κλινικό ιστορικό του ασθενή. Επίσης, η κυτταρολογία ασχολείται με διαφορετικά κλινικά ερωτήματα από ό,τι η εξέταση για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα (ΣΜΝ), συνεπώς η αφαίρεση κλάσματος ενδεχομένως να μην είναι κατάλληλο για όλες τις κλινικές περιπτώσεις. 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 ανεπαρκές υλικό στο SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) για την ικανοποιητική προετοιμασία ενός SUREPATH® Pap test (Τεστ Παπανικολάου).

Το κλάσμα θα πρέπει να αφαιρεθεί πριν από τη διαδικασία του τεστ Παπανικολάου SurePath® Pap Test. Μόνο ένα κλάσμα του δείγματος μπορεί να αφαιρεθεί από το SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) πριν από την εκτέλεση του τεστ Παπανικολάου, ανεξάρτητα από τον όγκο του κλάσματος.

#### Διαδικασία

1. Για να εξασφαλιστεί ομογενές μίγμα, το SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) θα πρέπει να υποστεί περιδίνηση για 10 - 20 δευτερόλεπτα και το κλάσμα των 0,5 mL θα πρέπει να αφαιρεθεί μέσα σε διάστημα ενός λεπτού από την περιδίνηση.
2. Για την αφαίρεση του κλάσματος θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί ρύγχος πιπέτας φράγματος αερολύματος πολυπροπυλενίου με μέγεθος κατάλληλο για τον όγκο που αφαιρείται. *Σημείωση:* Δεν επιτρέπεται η χρήση ορολογικών πιπετών. Για την αποφυγή επιμόλυνσης στο SurePath® Preservative Fluid (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) ή στο κλάσμα θα πρέπει να εφαρμόζονται οι ενδεδειγμένες εργαστηριακές πρακτικές. Η αφαίρεση κλάσματος θα πρέπει να πραγματοποιείται σε κατάλληλο μέρος έξω από την περιοχή όπου εκτελείται η ενίσχυση.
3. Πραγματοποιήστε οπτικό έλεγχο στο υλικό κλάσμα στην πιπέτα για ενδείξεις μεγάλων συσσωματωμάτων ή ημιστερεών. Εάν υπάρχουν ενδείξεις παρουσίας τέτοιου υλικού κατά την αφαίρεση του υλικού κλάσματος, όλο το υλικό θα πρέπει να επιστραφεί στο φιαλίδιο δείγματος και το δείγμα να χαρακτηριστεί ακατάλληλο για συμπληρωματικό έλεγχο πριν από την εκτέλεση του τεστ Παπανικολάου.
4. Για οδηγίες σχετικά με την επεξεργασία του κλάσματος με χρήση των δοκιμασιών ενισχυμένου DNA BD ProbeTec™ CT Q<sup>+</sup> και GC Q<sup>+</sup>, ανατρέξτε στα Ένθετα συσκευασίας που παρέχονται από τον κατασκευαστή της δοκιμασίας.

#### ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ

##### Παρεγόμενα υλικά

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης)
- PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (Θάλαμοι καθίζησης)
- SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόροι πλάκες)
- Δοκιμαστικοί σωλήνες φυγοκέντρησης
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες)
- Μύτες αναρρόφησης

##### Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Φυγοκεντρητής
- Στατήρες αντικειμενοφόρων πλακών
- Πιπέτα μεταφοράς (προαιρετικά)
- Δίσκος επεξεργασίας (προαιρετικά)
- Συσκευή δειγματοληψίας τύπου σκούπας ή ενδοτραχηλική ψήκτρα/πλαστική σπάτουλα με αποσπώμενη κεφαλή(ές)
- Στροβιλιστής
- Πιπέτες ακριβείας με μύτες μιας χρήσης
- Απιοτισμένο νερό (pH 7,5 έως 8,5)
- Ισοπροπανόλη και αλκοόλη βαθμού αντιδραστήριου
- Αντιδραστήρια χρώσης
- Παράγοντας διαύγασης, υλικά κάλυψης, καλυπτρίδες

#### ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

- Το χρονικό όριο αποθήκευσης για το SUREPATH® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης) χωρίς κυτταρολογικά δείγματα είναι 36 μήνες από την ημερομηνία παραγωγής, σε θερμοκρασία δωματίου (15 ° ως 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<sup>+</sup> και GC Q<sup>+</sup> μπορεί να αποθηκευτεί και να μεταφερθεί για διάστημα έως και 30 ημερών στους 2 ° - 30 °C πριν από τη μεταφορά του σε σωλήνες αραίωσης κυτταρολογικού δείγματος υψηλής βάσης (LBC) για τις Δοκιμασίες ενισχυμένου DNA BD ProbeTec™ Q<sup>+</sup>.

#### ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ

1. Μετά τη συλλογή του δείγματος χρησιμοποιώντας Rovers Cervex-Brush® ή παρόμοια συσκευή δειγματοληψίας, η κεφαλή της βούρτσας ξεπλένεται απευθείας στο υγρό, αφαιρείται από τη λαβή και τοποθετείται σε φιαλίδιο με SUREPATH® Preservative Fluid (Υγρό συντήρησης). Το φιαλίδιο, εν συνεχεία, πωματίζεται σφικτά, σημαίνεται και αποστέλλεται στο εργαστήριο.
2. Όταν τα φιαλίδια του δείγματος φθάσουν στο εργαστήριο, τοποθετήστε κάθε φιαλίδιο στο δίσκο επεξεργασίας με έναν προσημασμένο σωλήνα φυγοκέντρησης που περιέχει 4 ml PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας) και μια προσημασμένη πλάκα SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα). Το PREPSTAIN® Density Reagent

(Αντιδραστήριο πυκνότητας) πρέπει να προστεθεί στο σωλήνα πριν το δείγμα, αλλιώς θα μειωθεί η απόδοση.

3. Περιδινήστε ζωηρά κάθε φιαλίδιο δείγματος επί 10 - 20 δευτερόλεπτα. (Στο SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Φιαλίδιο συλλογής υγρού συντήρησης) υπάρχει αρκετή ποσότητα ώστε να είναι δυνατή η αφαίρεση έως και 0,5 mL ομογενούς μίγματος κυττάρων και υγρού για συμπληρωματικό έλεγχο, ενώ εξακολουθεί να υπάρχει επαρκής ποσότητα για τεστ Παπανικολάου. Η λήψη του κλάσματος μπορεί να πραγματοποιηθεί μετά από αυτό το βήμα περιδίνησης στη διαδικασία ελέγχου LBC SurePath® LBC Test.)
  - Χρησιμοποιήστε το PREPMATE™ Automated Accessory (Αυτοματοποιημένο παρελκόμενο) και τις PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες) για να μεταφέρετε το δείγμα. Βλ. Εγχειρίδιο χειριστή του PREPMATE για οδηγίες. **H**
  - Αφαιρέστε το πόμα του φιαλιδίου. Κρατήστε ένα SUREPATH® Preservative Vial (Φιαλίδιο συντήρησης) με το ένα χέρι και σπρώξτε απαλά μία από τις PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες) εντός του φιαλιδίου ώσπου να σταματήσει, ενώ το άκρο των PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες) θα είναι στραμμένο μακριά από το πρόσωπό σας. Αναποδογυρίστε τη διάταξη φιαλιδίου / PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες) στον κατάλληλο αριθμημένο δοκιμαστικό σωλήνα του PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας). Αφήστε όλο το διάλυμα δείγματος να απομακρυνθεί εντελώς από τις PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Πιπέτες - σύριγγες) πριν να συνεχίσετε. **H**
  - Αφαιρέστε το πόμα του φιαλιδίου. Αδειάστε αργά περίπου 8 ml δείγματος πάνω στο PREPSTAIN® Density Reagent (Αντιδραστήριο πυκνότητας).
4. Τοποθετήστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στους στατήρες του φυγοκεντρητή σύμφωνα με το διάγραμμα της ακολουθίας τοποθέτησης στο εγχειρίδιο διαδικασίας (κάθε στατήρας σωλήνων έχει χωρητικότητα για 12 σωλήνες). Η ακολουθία τοποθέτησης έχει κρίσιμη σημασία και οι σωλήνες πρέπει να τοποθετηθούν ισόροπα.
5. Εξισορροπήστε τους σωλήνες φυγοκέντρησης προσθέτοντας υγρό συντήρησης, εάν είναι απαραίτητο και εν συνεχεία φυγοκεντρήστε τα δείγματα επί 2 λεπτά στα 200 x g.
6. Εάν χρησιμοποιείτε την πιπέτα μεταφοράς, ανοίξτε το σύστημα της πιπέτας μεταφοράς (Easy Apsirator) και ρυθμίστε την πίεση στα 9 ± 2 σε Hg. Τοποθετήστε καθαρές μύτες στην πιπέτα μεταφοράς.
7. Αφαιρέστε τους στατήρες των σωλήνων φυγοκέντρησης από το φυγοκεντρητή. Κατεβάστε αργά τις μύτες της πιπέτας μεταφοράς (ή τις πιπέτες μεταφοράς μίας χρήσεως) μέσα στους σωλήνες φυγοκέντρησης για να αναρροφήσετε το υπερκείμενο. Η φυσική αναρρόφησης θα πρέπει να αγγίζει το πάνω μέρος των σωλήνων κατά την ολοκλήρωση της διαδικασίας. Ξεπλύνετε με νερό τις μύτες αναρρόφησης μεταξύ των δειγμάτων.
8. Φυγοκεντρήστε τους σωλήνες επί 10 λεπτά στα 800 x g για να συγκεντρωθεί το διαγνωστικό στοιχείο εντός κυτταρικού ιζήματος στον πυθμένα του σωλήνα.

9. Αφαιρέστε το στατήρα των σωλήνων από το φυγοκεντρητή. Απορρίψτε στο νεροχύτη ήρεμα και γρήγορα. Κρατώντας το στατήρα αναποδογυρισμένο, στυπώστε προσεκτικά τους σωλήνες με απορροφητικό χαρτί, επιβεβαιώνοντας ότι το κυτταρικό ίζημα παραμένει εντός του σωλήνα.
10. Επισημάνετε κάθε πλάκα SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα) με έναν αριθμό δείγματος, προσέχοντας να μην αγγίξετε την επιφάνεια της πλάκας SUREPATH® PreCoat. Τοποθετήστε τις αντικειμενοφόρους πλάκες σε στατήρα αντικειμενοφόρων πλακών και ασφαλίστε έναν PREPSTAIN® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης) σε κάθε αντικειμενοφόρο πλάκα. Η θέση κάθε αριθμημένης πλάκας SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα) στην πλάκα πρέπει να αντιστοιχεί στη θέση του αντίστοιχου σωλήνα φυγοκέντρησης.
11. Προσθέστε 4 ml απιονισμένου νερού (pH 7,5 - 8,0) σε κάθε σωλήνα δείγματος και αναμειξτε καλά με περιδίνηση.
12. Εργαζόμενοι με ένα σωλήνα δείγματος κάθε φορά, περιδινήστε το σωλήνα και αμέσως μεταφέρετε 800 μl του κυτταρικού εναιωρήματος στον αντίστοιχα αριθμημένο PREPSTAIN® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης)/ πλάκα SUREPATH® PreCoat (Αντικειμενοφόρος πλάκα). Επαναλάβετε για κάθε δείγμα.
13. Αφήστε να περάσουν 10 λεπτά για την ολοκλήρωση της πλήρους καθίζησης. Μετά την καθίζηση, αναποδογυρίστε απαλά το(ους) δίσκο(ους) με τις αντικειμενοφόρους πλάκες πάνω από το νεροχύτη για να απορριφθεί το υπόλοιπο υγρό και στυπώστε την περίσσεια υγρού με απορροφητικό χαρτί.
14. Ξεπλύνετε κάθε PREPSTAIN® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης) με 500 μl μετουσιωμένης αιθανόλης και απορρίψτε. Επαναλάβετε την έκπλυση με αλκοόλη, απορρίψτε το υγρό που απομένει και στυπώστε την περίσσεια υγρού με απορροφητικό χαρτί, αφήνοντάς τους θαλάμους αναποδογυρισμένους για τουλάχιστον 1 λεπτό.
15. Αφαιρέστε τον PREPSTAIN® Settling Chamber (Θάλαμος καθίζησης).
16. Χρωματίστε και καλύψτε τις πλάκες SUREPATH® Slides (Αντικειμενοφόροι πλάκες).

#### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

- Όλα τα διαγνωστικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος στα κυτταρολογικά εργαστήρια για τα παραδοσιακά επιχρίσματα Παπανικολάου ισχύουν και για τα υγρά παρασκευάσματα της TRIPATH Imaging®, Inc.
- Οποιοσδήποτε μη φυσιολογικές ή αμφισβητούμενες παρατηρήσεις κατά την διάρκεια της εξέτασης του προσυμπτωματικού ελέγχου θα πρέπει να παραπέμπονται σε παθολογοανατόμο για επανεξέταση και διάγνωση. Οποιοσδήποτε αλλαγές συμβούν στη κυτταρική μορφολογία είναι σημαντικές και θα πρέπει να σημειώνονται.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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 ΕΠΙΦΥΛΑΞΗ ΠΑΝΤΟΣ ΔΙΚΑΙΩΜΑΤΟΣ.

Η ονομασία BD, το λογότυπο BD και η ονομασία BD ProbeTec είναι σήματα κατατεθέντα της εταιρίας Becton, Dickerson and Company. © 2011 BD

# MANUEL YÖNTEM

## Jinekolojik uygulamalar için hücre hazırlama işlemi

REF 490529

REF 490635

### KULLANIM AMACI

#### İn Vitro Diyagnostik Kullanım İçindir

Manuel Yöntem, sıvı bazlı hücre preparatları (LBP'ler) üretmek için kullanılan bir yöntemdir. Manuel Yöntem, servikal kanser taramalarında geleneksel Pap smiri preparatının yerine kullanılabilir.

SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı), BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> ve *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> 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) kullanımını hakkındaki talimatlar için dizi paketi belgelerine bakın.

### ÖZET VE AÇIKLAMA

Papanicolaou (Pap) yöntemiyle servikal sitoloji taramasında, önceden ekto serviks ve endoserviksten alınan hücre numuneleri cam slaytlara yayılarak ve Pap prosedürüyle boyanarak mikroskopik açıdan incelenir.<sup>1,2,3</sup> Pap smiriyle servikal sitoloji taraması, invaziv servikal karsinomunun mortalite oranını yüzde 50 ila 70 düşürmüştür.<sup>4</sup> Servikal sitoloji bir tarama testi olduğu için, anormal bulgular histolojik olarak doğrulanmalıdır.

Numune toplama ve hazırlama, Pap smirlerinin doğruluğunda büyük bir öneme sahiptir. Randomizasyon veya tekdüze alt numune alma, tam doğruluk için gereklidir. Geleneksel Pap smiri tekniği, slaytın hazırlanmasından önce numunenin karıştırılmasına izin vermez. Numune alma cihazındaki mukusta hücrelerin karışması nedeniyle slayta aktarılan hücreler alınan popülasyonun tümünü temsil etmeyebilir. Hücreler, numune alma cihazında buldukları yere göre slayta aktarılırlar. Çoğu hücre cihazda bırakılır.<sup>5</sup>

Tipik bir servikal numunenin homojen olmayışı, geleneksel smirlerin hazırlanmasını, taranmasını ve yorumlanmasını zorlaştırabilir. Büyük geleneksel slayt alanları çoğu zaman değerli diyagnostik materyalleri engelleyen debris, enflamatuvar hücreler ve epitelyal hücrelerle dolar. Ayrıca smir hazırlıktan sonra hemen sabitlenmezse, smir kurudukça hücre morfolojisi bozulabilir (havayla kuruyan yapı).

Manuel Yöntem, servikal numunenin sıvı süspansiyonunu diyagnostik hücre grupları sağlayarak uygun şekilde boyalı, homojen SUREPATH® slaytına dönüştüren bir yöntemdir.<sup>6,7,8,9</sup> Proses, bir hücre preparatı oluşturulması için hücre koruma, randomizasyon, diyagnostik materyalin yoğunlaştırılması, pipetleme ve sedimentasyon işlemlerini kapsar. Hazırlama sürecinin sonucu, Bethesda Sistemi tarafından tanımlanan şekilde rutin sitoloji taramasında ve kategorizasyonda kullanılan SUREPATH® slayttır.<sup>10</sup>

### PROSEDÜR İLKELERİ

Manuel Yöntem, servikal hücrelerin LBP'lerini hazırlamak için kullanılan bir prosedürdür. Jinekolojik numuneler, kalifiye sağlık personeli tarafından çıkarılabilen başlıklı süpürgeye benzeyen cihazlar (örn. Cervex-Brush®) veya plastik spatül ve endoservikal fırça cihazları kombinasyonu (örn. Cytobrush® Plus GT ve Pap-Perfect® spatül, MedScand (ABD), Inc.) kullanılarak toplanır. Fırçanın başlığı koldan çıkarılır ve SUREPATH® Koruyucu Sıvının flakonuna yerleştirilir. Flakonun kapağı kapatılır, etiketlenir ve ilgili belgelerle birlikte işlenmek üzere laboratuara gönderilir.

Laboratuarda, korunan numune vorteks cihazıyla karıştırılır ve PREPSTAIN® Dansite Reaktifini içeren bir tüpe aktarılır. PREPSTAIN® Dansite Reaktifine santrifüjli sedimentasyondan oluşan yoğunlaştırma adımında, diyagnostik olmayan debris ve fazla enflamatuvar hücreler numuneden kısmen uzaklaştırılır. Santrifüj işleminden sonra, yoğunlaştırılmış hücre bileşenini içeren tüp D.I. suyla sulandırılarak hazırlanır ve hücre materyali aspirasyon/boşaltma sekansı kullanılarak bir pipetör ile tekrar süspansiyona alınır. Daha sonra numune materyal SurePath® PreCoat slaytına monte edilmiş PREPSTAIN® Durultma Odasına aktarılır. Kısa inkübasyon sırasında ağırlık sedimentasyonu oluşur. Fazla materyal dökülür. SUREPATH® PreCoat slaytı boyanır, temizlenir ve lamele yerleştirilir; hücreler 13 mm çapında bir daire içinde sunulur. SUREPATH® Slaytı, diğer ilgili hasta bilgileriyle bağlantılı olarak eğitilmiş sitoteknologlar ve patoloğlar tarafından incelenir.

### KISITLAMALAR

- Manuel Yöntem kullanarak hazırlamaya yönelik jinekolojik numuneler, imalatçı tarafından sağlanan standart toplama prosedürüne göre süpürge tipi bir cihazla toplanmalıdır.
- TRIPATH Imaging®, Inc sıvı bazlı preparatların üretimini ve değerlendirmesini yalnızca TRIPATH tarafından eğitilmiş veya böyle bir eğitimi vermek için TRIPATH'ın görevlendirdiği kişiler tarafından eğitilen personel yapmalıdır.
- Cihazın uygun performans göstermesi, yalnızca TRIPATH Imaging, Inc® tarafından desteklenen veya TRIPATH Imaging, Inc® tarafından tavsiye edilen malzemelerin kullanılmasını gerektirir. Kullanılan malzemeler kurumsal ve resmi düzenlemelere uygun olarak doğru şekilde atılmalıdır.
- Tüm malzemeler tek kullanımlıktır ve tekrar kullanılmaz.
- 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.

### UYARILAR

- SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) seyreltilmiş denatüre etanol çözeltisi içerir ve insan tüketimi için değildir. Karışım, zararlı olabilecek ve yutulduğu takdirde körlüğe yol açabilecek az miktarda metanol ve izopropanol içerir.

- PREPSTAIN® Density Reagent (Dansite Reaktif) sodyum azit içerir. 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, Centers for Disease Control (Hastalık Kontrol Merkezleri) tarafından yayınlanan Kullanım Kılavuzu'na bakın.<sup>11</sup>

### ÖNLEMLER

- İyi laboratuvar uygulamaları izlenmelidir ve Manuel Yöntemin kullanımını için tüm prosedürlere uyulmalıdır.
- Tüm reaktifler, önerilen saklama koşulları izlendiği ve uygulandığı sürece belirtilen son kullanma tarihlerine kadar stabildir.
- Reaktiflerin mikrobik kontaminasyonu yanlış sonuçlar verebilir.
- SUREPATH® PreCoat slaytlarından başka bir ikame, en iyi sonuçların altında sonuçlara yol açabilir.
- Sıçramasını veya aerosollerin oluşumunu önleyin. Uygun el, göz ve giysi koruması kullanın.
- SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı), bakterisittir ve şunlara karşı test edilmiştir: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* ve *Aspergillus niger*. Ancak, biyolojik sıvıların güvenli kullanımına yönelik genel önlemler her zaman uygulanmalıdır.

### 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

1. 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.
2. 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.
3. Pipeteki parça materyalini büyük sulu partiküllerin veya yarı katıların varlığını belirlemek üzere görsel olarak kontrol edin. Parça materyalini çekerken bu tür materyallerin varlığına ilişkin kanıtlarla karşılaştırılması tüm materyalin numune flakonuna geri gönderilmesini ve numunenin Pap testi yapmadan önce yardımcı testler açısından reddedilmesini gerektirir.
4. BD ProbeTec™ Chlamydia trachomatis (CT) Q<sup>x</sup> ve Neisseria gonorrhoeae (GC) Q<sup>x</sup> Yükseltilmiş DNA Dizileri kullanılarak yapılan parça işleme hakkındaki talimatlar için dizi üreticisi tarafından sağlanan Paket Belgelerine bakın.

## GEREKLİ MALZEMELER

### Sağlanan Malzemeler

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu)
- PREPSTAIN® Density Reagent (Dansite Reaktif)
- PREPSTAIN® Durultma Odaları
- SUREPATH® PreCoat slaytları
- Santrifüj Tüpleri
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Şırınga Pipetleri)
- Aspiratör Uçları

### Gerekli fakat sağlanmamış malzemeler

- Santrifüj
- Slayt Rafları
- Easy Aspiratör (isteğe bağlı)
- İşleme Tepsisi (isteğe bağlı)
- Çıkarılabilen başlıklı süpürge türü numune alma cihazı veya endoservikal fırça/plastik spatül
- Vorteks Karıştırıcı
- Atılabilir Uçlu Hassas Pipetler
- Deiyonize Su (pH 7,5 ila 8,5)
- İzopropanol ve Reaktif Sınıfı Alkol
- Boyama Reaktifleri
- Temizlik Ajanı, Sabitleme Ortamı, Lameller

## SAKLAMA

- İçinde sitolojik numuneler bulunmayan SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) imal tarihinden itibaren oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 36 aya kadar saklanabilir.
- Sitolojik numuneler içeren SUREPATH® Preservative Fluid

(Koruyucu Sıvı) için saklama sınırı soğutucu koşullarında (2 ° ila 10 °C) 6 ay veya oda sıcaklığında (15 ° ila 30 °C) 4 haftadır.

- BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> ve GC Q<sup>x</sup> Yükseltilmiş DNA Dizileri ile kullanılması amaçlanan sitolojik numune içeren SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) depolanabilir ve BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> ve GC Q<sup>x</sup> Yükseltilmiş DNA Dizileri için kullanılan Sıvı Bazlı Sitoloji Numunesi (LBC) Sulandırma Tüplerine taşımadan önce 2 ° – 30 °C'de 30 güne kadar saklanabilir.

## PROSEDÜRLER

1. Rovers Cervex-Brush® veya benzeri numune alma cihazı kullanılarak numune alındıktan sonra, fırça başlığı doğrudan sıvıyla yıkanır, koldan çıkarılır ve SUREPATH® Preservative Fluid (Koruyucu Sıvı) flakonuna atılır. Flakonun kapağı sıkıca kapatılır, etiketlenir ve laboratuara gönderilir.
2. Numune flakonları laboratuara ulaştığında, her flakonun önceden 4 ml PREPSTAIN® Density Reagent (Dansite Reaktif) ve etiketli SUREPATH® PreCoat slaytıyla doldurulmuş etiketli santrifüj tüpüyle beraber işleme tepsisine yerleştirin. Numune eklenmeden önce PREPSTAIN® Density Reagent (Dansite Reaktif) tüpe eklenmelidir aksi halde performans düşebilir.
3. Her numune flakonunu 10 – 20 saniye kuvvetli bir şekilde vortekse tabi tutun. (SurePath® Preservative Fluid Collection Vial'de (Koruyucu Sıvı Toplama Flakonu) Pap testleri için hala yeterli hacim varken, yardımcı testler için homojen hücre karışımı ve sıvısından en çok 0,5 mL çıkarılabilecek yeterli hacim mevcuttur. Parça çıkarma işlemi SurePath® LBC Test işlemindeki bu vortekse tabi tutma işleminden sonra yapılabilir.)
  - Numuneyi aktarmak için PREPMATE Otomatik Aksesuarını ve PREPSTAIN® Syringing Pipettes'i (Şırınga Pipetleri) kullanın. Talimatlar için PREPMATE Kullanıcı Kılavuzu'na bakın. **Veya**
  - Flakon kapağını çıkarın. SUREPATH® Preservative Vial'i (Koruyucu Flakon) bir elinizde tutun, PREPSTAIN® Syringing Pipettes'in (Şırınga Pipetleri) ucu artık yüzünüzden uzakta olmayacak duruma gelene kadar PREPSTAIN® Syringing Pipettes'i (Şırınga Pipetleri) hafifçe flakona itin. Flakonu / PREPSTAIN® Syringing Pipettes (Şırınga Pipetleri) tertibatını uygun numaralı PREPSTAIN® Density Reagent (Dansite Reaktif) tüpüne ters çevirin. Devam etmeden önce tüm numune çözeltisinin PREPSTAIN® Syringing Pipettes'ten (Şırınga Pipetleri) tamamen akmasını sağlayın. **Veya**
  - Flakon kapağını çıkarın. Yaklaşık 8 ml numuneyi PREPSTAIN® Density Reagent'a (Dansite Reaktif) yavaşça dökün.
4. Prosedür Kılavuzundaki yerleştirme sırası şemasına göre tüpleri santrifüj raflarına yerleştirin (her tüp rafının kapasitesi 12 tüptür). Yerleştirme sırası önemlidir ve dengeli olmalıdır.
5. Gerekirse Koruyucu Sıvı ekleyerek santrifüj tüplerini dengeleyin ve numuneleri 2 dakika boyunca 200 x g ile santrifüjleyin.
6. Easy Aspiratör kullanılıyorsa, Easy Aspiratör sistemini açın ve

basıncı Hg cinsinden 9 ± 2'ye ayarlayın. Easy Aspiratör aspiratörüne temiz uçlar yerleştirin.

7. Santrifüj tüpü raflarını santrifüjden çıkarın. Üst fazı aspire etmek için Easy Aspiratör uçlarını (veya atılabilir aktarma pipetlerini) yavaşça santrifüj tüplerine indirin. Sonunda aspiratör cihazı, tüplerin ucuna temas etmemelidir. Numuneler arasında Aspiratör Uçlarını suyla yıkayın.
8. Diyagnostik bileşenleri konsantre hale getirerek tüpün dibinde hücre pelleti oluşturmak için tüpleri 800 x g ile 10 dakika santrifüjleyin.
9. Tüp rafını santrifüjden çıkarın. Hafif ve hızlı bir hareketle havuza dökün. Rafı ters çevrili halde tutun, hücre pelletini tüpte bırakarak tüpleri dikkatli bir şekilde emici kağıtta kurutun.
10. Her numune numarasıyla bir SUREPATH® PreCoat slaytı etiketleyin, SUREPATH® PreCoat slaytının yüzeyine dokunmamaya dikkat edin. Slaytları Slayt Rafına yerleştirin ve her slayt üzerine bir PREPSTAIN® Durultma Odası kilitleyin. Plaktaki numaralı her SUREPATH® PreCoat slaytının konumu ilgili santrifüj tüpünün konumuyla eşleşmelidir.
11. Her numune tüpüne 4 mL Deiyonize Su (pH 7,5 – 8,0) ekleyin ve vorteksleyerek iyice karıştırın.
12. Bir kerede bir numune tüpüyle çalışarak tüpü vorteksleyin ve hemen 800 µl hücre süspansiyonunu aynı numaralı PREPSTAIN® Durultma Odasına/ SUREPATH® PreCoat slaytına aktarın. Her numune için işlemi tekrar edin.
13. Tam sedimantasyonun oluşması için 10 dakika bekletin. Sedimantasyondan sonra, kalan sıvıyı dökmek ve fazla sıvıyı emici kağıtta kurutmak için slayt plağını/plaklarını havuzun üzerinde yavaşça ters çevirin.
14. Her PREPSTAIN® Durultma Odasını 500 µl denatüre etanol ile yıkayın ve boşaltın. Alkolle yıkamayı tekrar edin, kalan sıvıyı dökün ve en az 1 dakika ters çevrili halde bırakarak fazla sıvıyı emici kağıtta kurutun.
15. PREPSTAIN® Durultma Odasını çıkarın.
16. SUREPATH® Slaytlarını boyayın ve lamele yerleştirin.

## SONUÇLAR VE YORUMLAMA

- Sitolojik laboratuvarlarında geleneksel Pap smearleri için kullanılan mevcut tüm diyagnostik kriterler, TRIPATH Imaging®, Inc. sıvı bazlı preparatları için de geçerlidir.
- Her türlü anormal veya şüpheli tarama gözlemleri yeniden inceleme ve tanı için patologa gönderilmelidir. Tüm hücresel morfolojik değişimler önemlidir ve bildirilmelidir.

## **BİBLİYOGRAFYA**

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## **Technical Support**

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TÜM HAKLARI SAKLIDIR.

BD, BD Logosu ve BD ProbeTec Becton, Dickinson and Company'nin ticari markalarıdır. © 2011 BD

## MANUELL METOD

### En cellberedningsprocess för gynekologiska applikationer

REF 490529 REF 490635

#### AVSEDD ANVÄNDNING

##### För in vitro-diagnostik

Den manuella metoden är en metod som används för att producera vätskebaserade cellpreparat (LBP). Den manuella metoden är avsedd som ersättning för den konventionella cellulstrykningsmetoden för användning vid screening av cervixcancer.

SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) är ett lämpligt insamlings- och transportmedium för gynekologiska prover som testas med DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>x</sup> och *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>x</sup>. Se analysens bipacksedel för anvisningar om användning av SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) för preparering av prover för användning med dessa tester.

#### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Cytologisk screening med Papanicolaou-metoden (Pap) involverar mikroskopisk undersökning av cellprover som har tagits främst från ekto- och endocervix, utstrukna på objektglas och färgade med användning av Pap-proceduren.<sup>1,2,3</sup> Cervikal cytologisk screening med Pap-utstryk har minskat dödligheten vid invasivt cervixkarcinom med 50 till 70 procent.<sup>4</sup> Eftersom cervixcytologi är ett screeningtest, måste onormala upptäckter bekräftas histologiskt.

Provtagning och beredning är mycket viktiga för noggrannhet i cellulstryk. Randomisering eller enhetlig subprovtagning är viktig för fullständig noggrannhet. Med den vanliga Pap-utstrykningsmetoden kan proverna inte blandas före objektglasberedning. På grund av cellernas hoptrasslande i slemhinnan på provtagningsenheten är de celler som överförs till objektglaset eventuellt inte representativa för den totala cellpopulationen. Cellerna överförs till objektglaset i förhållande till var de råkar befinna sig på provtagningsenheten. Många celler blir kvar på enheten.<sup>5</sup>

Icke-homogeniteten hos ett typiskt cervixprov kan göra konventionella utstryk svåra att bereda, screena och tolka. Stora områden av det konventionella objektglaset är ofta täckta av rester, inflammatoriska celler och epitelceller som kan skymma värdefullt diagnostiskt material. Om utstryket dessutom inte fixeras direkt efter beredning, kan den cellulära morfologin förvrängas när utstryket torkar (lufttorkningsartefakt).

Den manuella metoden är en metod för att omvandla en vätskesuspension av ett cervixprov till ett jämnt färgat, homogent SUREPATH®-objektglas, samtidigt som diagnostiska cellkluster bibehålls.<sup>6,7,8,9</sup> Processen omfattar cellkonservering, randomisering, berikning av diagnostiskt material, pipettering och sedimentering för att skapa ett cellulärt preparat. Resultatet av beredningsprocessen är ett SUREPATH®-objektglas för användning i rutinmässig cytologisk screening och kategorisering enligt Bethesda System.<sup>10</sup>

#### PRINCIPER FÖR METODEN

Den manuella metoden är en procedur för beredning av vätskebaserade preparat (LBP) av cervixceller. Gynekologiska prover samlas in av kvalificerad medicinsk personal med borstliknande enheter (t.ex.

Cervex-Brush®) eller en kombinerad endocervikal borste/plastspatel (t.ex. Cytobrush® Plus GT och Pap-Perfect®-spatel, MedScand (USA), Inc.) med löstagbara huvuden. Borstens huvud tas bort från handtaget och placeras i en flaska med SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska). Flaskan förses med lock, märks och skickas med lämpliga dokument till laboratoriet för bearbetning.

I laboratoriet blandas det konserverade provet genom vortexing och överförs sedan till ett provrör med PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens). Ett berikningssteg, som består av centrifugsedimentering genom PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens), avlägsnar delvis icke-diagnostiska rester och överflödiga inflammatoriska celler från provet. Efter centrifugering rekonstitueras provröret som innehåller den berikade cellulära komponenten med avjoniserat vatten och det cellulära materialet återsuspenderas med en pipett genom en aspirerings-/dispenseringssekvens. Provmaterialet överförs därefter till en PREPSTAIN® Settling Chamber (stagnationskammare) monterad på ett SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas. Sedimentering genom gravitation sker under en kort inkubation. Överskottsmaterial dekanteras. SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglaset färgas, klargörs och förses med täckglas, med cellerna placerade i en cirkel på 13 mm i diameter. SUREPATH® objektglaset undersöks av utbildade cytotekniker och patologer tillsammans med annan relevant patientinformation.

#### BEGRÄNSNINGAR

- Gynekologiska prover för beredning med den manuella metoden skall tas med en enhet av borsttyp i enlighet med den standardprocedur för provtagning som tillverkaren tillhandahåller.
- Proceduren och utvärderingen av TRIPATH Imaging®, Inc. vätskebaserade cellpreparat skall endast utföras av personal som utbildats av TRIPATH eller av andra som godkänts av TRIPATH att utföra detta.
- För att enheten skall fungera rätt får endast de material som godkänts av TRIPATH Imaging®, Inc. eller som rekommenderats av TRIPATH Imaging®, Inc. användas. Använt material skall bortscaffas i enlighet med institutionella och kommunala föreskrifter.
- Allt material är 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).

#### VARNINGAR

- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) innehåller en utspädd vätska av denaturerad etanol och är inte avsedd för förtäring. Blandningen innehåller små mängder metanol och isopropanol, som kan vara skadliga och orsaka blindhet vid förtäring.
- PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) innehåller natriumazid. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda högexplosiva metallazider. Vid bortscaffning spolar man med stora mängder vatten för att förhindra aziduppyggnad.

För vidare information, se den handbok som utfärdats av Centers for Disease Control (den centrala myndigheten i USA för kontroll och förebyggande av sjukdomar)<sup>11</sup>.

#### FÖRSIKTIGHETSBEAKTANDEN

- God laboratoriepraxis bör iaktas och alla procedurer där den manuella metoden används noggrant följas.
- Alla reagenser är stabila till det utgångsdatum som angivits vid rekommenderade förvaringsvillkor.
- Mikrobiell kontamination av reagenser kan ge felaktiga resultat.
- Användning av andra än SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas kan ge sämre resultat.
- Undvik stänk och aerosolbildning. Använd lämpliga skyddshandskar, ögonskydd och skyddsrockar.
- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) är bakteriedödande och har testats mot: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* och *Aspergillus niger*. Vidta ändå alltid allmänna försiktighetsbeaktanden för säker hantering av biologiska vätskor.

#### 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 en 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 resultatet inte korrelerar med patientens anamnes. Cytologi riktar 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

1. För att säkerställa att blandningen är homogen måste SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (provtagingsvial med konserveringsmedel) vortexas i 10-20 sekunder. Alikvoten på 0,5 ml måste tas ut inom en minut efter vortexningen.
2. 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 (provtagingsvial med konserveringsmedel) eller i alikvoten. Alikvoten ska tas ut på en lämplig plats utanför områden där amplifiering utförs.
3. Kontrollera alikvotmaterialet i pipetten visuellt med avseende på stora, grova partiklar och halvfast material. Om sådant material hittas när alikvoten tas ut ska allt material genast föras tillbaka till provtagingsflaskan igen och provet diskvalificeras från patientnära testning innan Pap-testet utförs.
4. För anvisningar om processning av alikvoten med hjälp av DNA-amplifieringstesterna BD ProbeTec™ CT Q<sup>x</sup> och GC Q<sup>x</sup>, se analysstillverkarens bipacksedel.

## TILLHANDAHÅLLET MATERIAL

### Material som medföljer

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (provtagingsvial med konserveringsmedel)
- PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (stagnationskammare)
- SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas
- Centrifugrör
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprutpipetter)
- Aspiratorspetsar

### Material som krävs men ej medföljer

- Centrifug
- Objektglasställ
- Easy Aspirator (valfritt)
- Bearbetningsbricka (valfritt)
- Provtagingsenhet av borsttyp eller endocervikal borste/plastspatel med löstagbart huvud
- Vortexblandare
- Precisionspipetter med engångsspetsar
- Avjoniserat vatten (pH 7,5 till 8,5)
- Isopropanol och reagensalkohol
- Färgningsreagenser
- Klarningsmedel, monteringsmedium, täckglas

## FÖRVARING

- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) utan cytologiska prover kan förvaras upp i rumstemperatur (15 till 30 °C) till 36 månader från tillverkningsdatum.
- SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) med cytologiska prover kan förvaras i 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 Q<sup>x</sup> och GC Q<sup>x</sup> 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™ Q<sup>x</sup>.

## PROCEDURER

1. När provet har tagits med en Rovers Cervex-Brush® eller liknande anordning, skall borsthuvudet sköljas direkt i vätskan, tas bort från handtaget och läggas i SUREPATH® Preservative Fluid (konserveringsmedelvätska) vial. Flaskan förses med tätslutande lock, märks och skickas till laboratoriet.
2. När provflaskorna har kommit till laboratoriet, skall varje flaska placeras på bearbetningsbrickan med ett märkt centrifugrör fyllt med 4 ml PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) och ett märkt SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas. PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens) måste tillsättas till röret innan provet tillsätts, annars nedsätts prestandan.
3. Skaka kraftigt varje provflaska i 10 – 20 sekunder. (SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (provtagingsvial 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 och en tillräcklig volym ändå finns kvar för Pap-testet. Alikvoteringen kan utföras efter detta vortexningssteg i SurePath® LBC-testprocessen.)
  - Använd PREPMATE™ automatiserade tillbehör och PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprutpipetter) för överföring av provet. Se PREPMATE™ användarhandbok för instruktioner. **Eller**
  - Ta av flasklocket. Håll en SUREPATH® Preservative Vial (konserveringsvial) i en hand, skjut försiktigt ned en PREPSTAIN® Syringing Pipette (sprutpipett) i flaskan tills det tar stopp, med änden på PREPSTAIN® Syringing Pipette (sprutpipett) vänd bort från ditt ansikte. Vänd flaskan och PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprutpipetter) upp och ned i det korrekt numererade PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens)-röret. Låt all provvätska rinna ut ur PREPSTAIN® Syringing Pipettes (sprutpipetter) innan du går vidare. **Eller**
  - Ta av flasklocket. Håll sakta ca 8 ml av provet på PREPSTAIN® Density Reagent (densitetsreagens).
4. Placera rören i centrifugställen enligt placeringsskvensdiagrammet i procedurhandboken (varje rörställ har plats för 12 rör). Placeringen är viktig och måste vara balanserad.
5. Balansera centrifugrören genom att vid behov tillsätta konserveringsvätska och centrifugera proverna i 2 minuter vid 200 x g.
6. Om Easy Aspirator används, slå på Easy Aspirator-systemet och justera trycket till 9 ± 2 in Hg. Sätt rena spetsar på Easy Aspirators aspirator.
7. Ta bort rörställen från centrifugen. Sänk sakta ned Easy Aspirator-spetsarna (eller överföringspipetter för engångsbruk) i centrifugrören för att aspirera supernatant. Aspireringsenheten

skall vidröra rörens översta kant när det är klart. Skölj aspiratorspetsarna med vatten mellan proverna.

8. Centrifugera rören i 10 minuter vid 800 x g för att koncentrera den diagnostiska komponenten till en cellpellet på rörets botten.
9. Ta bort rörstället från centrifugen. Dekantera försiktigt och snabbt i vasken. Håll stället upp och ned och torka försiktigt rören mot absorberande papper och se samtidigt till att cellpelleten stannar kvar i röret.
10. Märk ett SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas med varje provnummer. Se till att inte vidröra ytan på SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas. Placera objektglaset i objektglasställ och sätt fast en REPSTAIN Settling Chamber (stagnationskammare) på varje objektglas. Positionen på varje numererat SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas på plattan måste matcha positionen på motsvarande centrifugrör.
11. Tillsätt 4 ml avjoniserat vatten (pH 7,5-8,0) till varje provrör och blanda väl genom vortexblandning.
12. Arbeta med ett provrör i taget, vortexblanda röret och överför genast 800 µl cellsuspension till motsvarande numererade PREPSTAIN® Settling Chamber (stagnationskammare)/SUREPATH® PreCoat (förbeläggning) objektglas. Upprepa för varje prov.
13. Beräkna 10 minuter för fullständig sedimentering. Efter sedimentering, vänd försiktigt objektglasplattan (-plattorna) upp och ned över vasken för att dekantera återstående vätska och torka överskottsvätska mot ett absorberande papper.
14. Skölj varje PREPSTAIN® Settling Chamber (stagnationskammare) med 500 µl denaturerad etanol och dekantera. Upprepa alkoholsköljningen, dekantera återstående vätska och torka överskottsvätska mot ett absorberande papper. Lämna stagnationskammarna upp- och nedvända i minst 1 minut.
15. Ta bort PREPSTAIN® Settling Chamber (stagnationskammare).
16. Färga och förse SUREPATH® objektglas med täckglas.

## RESULTAT OCH TOLKNING

- Alla diagnostiska kriterier i aktuell cytologisk laboratorieanvändning för konventionella cellutstryk är tillämpliga för TRIPATH Imaging®, Inc. vätskebaserade preparat.
- Alla onormala eller tvavsamma observationer vid screeningen skall remitteras till en patolog för granskning och diagnos. Cellulära morfologiska förändringar är viktiga och skall noteras.

## LITTERATURFÖRTECKNING

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



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.

BD, BD-logotypen och BD ProbeTec är varumärken tillhör  
Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

## РУЧНОЙ МЕТОД

### Процесс подготовки клеток для гинекологических исследований

REF 490529 REF 490635

#### НАЗНАЧЕНИЕ

##### Для диагностики *in vitro*

Ручной метод представляет собой процесс приготовления клеточных препаратов на жидкой основе. Ручной метод призван заменить традиционный метод приготовления микропрепаратов мазков по Папаниколау, применяющихся в скрининговом исследовании для выявления рака шейки матки.

SUREPATH® Preservative Fluid (жидкий консервант) является средой для сбора и транспортировки гинекологических образцов, тестируемых в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>x</sup> и *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>x</sup>. 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

Скрининговое исследование для выявления рака шейки матки с использованием метода Папаниколау (Pap) включает микроскопическое исследование экто- и эндоцервикальных клеточных образцов, нанесенных на предметные стекла и окрашенных по методу Папаниколау<sup>1,2,3</sup>. Цервикальное цитологическое скрининговое исследование с помощью мазка по Папаниколау позволило сократить уровень смертности от инвазивной карциномы шейки матки на 50 – 70 %<sup>4</sup>. Поскольку цервикальное цитологическое исследование представляет собой скрининговое исследование, все обнаруженные патологии должны подтверждаться гистологическим исследованием. Для точности диагноза по мазкам Папаниколау крайне важно соблюдать процедуры отбора и приготовления образцов. Для полной точности чрезвычайно важна рандомизация и равномерный отбор части образца. Традиционная процедура взятия мазка по Папаниколау не предусматривает перемешивания образца перед приготовлением микропрепарата. Поскольку клетки на устройстве для взятия проб погружены в слизь, те клетки, которые переносятся на микропрепарат, могут не быть репрезентативной выборкой всех клеток взятого мазка. Клетки переносятся на предметное стекло в зависимости от того, в каком месте устройства для взятия проб они находились. Много клеток остается на устройстве для забора проб<sup>5</sup>.

Неоднородность типичного образца цервикального мазка ведет к тому, что мазки, приготовленные традиционным способом, трудно готовить, исследовать и интерпретировать. Часто большие области микропрепаратов, приготовленных традиционным способом, покрыты примесями, клетками воспаления и пластинами эпителиальных клеток, которые могут скрывать ценный диагностический материал. Кроме того, если мазок не зафиксирован немедленно после приготовления, клеточная морфология может исказиться по мере высыхания (воздушные артефакты).

Ручной метод представляет собой метод для превращения жидкой суспензии взятого мазка цервикальных клеток в равномерно окрашенный гомогенный микропрепарат SUREPATH® без разрушения скоплений клеток, необходимых для диагностики<sup>6,7,8,9</sup>. Процесс включает консервацию клеток, их рандомизацию, обогащение диагностического материала, пипетирование и осаждение для создания клеточного препарата. Полученный в результате этого процесса микропрепарат SurePath® может использоваться для обычного цитологического скринингового исследования и категоризации по классификации Бетесда<sup>10</sup>.

#### ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Ручной метод представляет собой процесс приготовления клеточных препаратов цервикальных клеток на жидкой основе. Гинекологические образцы собираются квалифицированным медицинским персоналом с помощью приспособления типа «метелка» (например, Cervex Brush®) или эндоцервикального комбинированного устройства типа щетки-шпателя (например, Cytobrush® Plus GT или Pap Perfect® компании MedScand (USA) Inc.) со съёмными головками. Головку устройства снимают с ручки и помещают во флакон с SUREPATH® Preservative Fluid (жидким консервантом). Флакон закрывают пробкой, прикрепляют этикетку и отправляют в сопровождении соответствующих документов в лабораторию для обработки.

В лаборатории законсервированный образец перемешивают путем встряхивания, а затем переносят в пробирку с PREPSTAIN® Density Reagent (плотным реагентом). Стадия обогащения, состоящая из осаждения препарата на центрифуге через PREPSTAIN® Density Reagent (плотный реагент), частично удаляет из препарата ненужные для диагностики примеси и избыточные клетки воспаления. После центрифугирования пробирку с обогащенным клеточным компонентом восстанавливают деионизированной водой, и клеточный материал ресуспендируют с помощью пипеточного дозатора путем последовательного отбора и выпуска жидкости. Затем материал образца переносится в PREPSTAIN® Settling Chamber (осадочную камеру), помещенную на предметное стекло SUREPATH® PreCoat. Клетки осаждаются под действием силы тяжести в течение короткого периода инкубации. Избыточный материал сливают. Микропрепарат SUREPATH® PreCoat окрашивают, осветляют и накрывают покровным стеклом. Клетки располагаются в круге диаметром 13 мм. Микропрепарат SUREPATH® изучается под микроскопом квалифицированным цитотехнологом или патологом, с учетом другой информации о пациенте.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ

- Гинекологические образцы для приготовления препаратов, получаемых с помощью ручного метода, должны собираться с помощью одобренного устройства типа «метелка» в соответствии со стандартной процедурой взятия мазка, определенной производителем.
- Приготовлением и исследованием препаратов TriPATH Imaging®, Inc на жидкой основе могут заниматься только лица, прошедшие обучение в компании TriPATH или иных организациях, уполномоченных компанией TriPATH на проведение подобного обучения.

- Для обеспечения требуемой эффективности устройства следует использовать только материалы, поставляемые или рекомендуемые компанией TriPATH Imaging®, Inc. Использованные материалы должны быть надлежащим образом утилизированы в соответствии с нормативами организации и действующим законодательством.
- Все материалы предназначены для одноразового использования и не могут 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).

#### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

- SUREPATH® Preservative Fluid (жидкий консервант) содержит водный раствор денатурированного этилового спирта и не предназначен для употребления внутрь. Смесь содержит небольшие доли метилового и изопропилового спиртов, которые при приеме внутрь могут быть опасны для здоровья и привести к слепоте.
- PREPSTAIN® Density Reagent (плотный реагент) содержит азид натрия. Азид натрия может реагировать с медными и свинцовыми трубками, образуя высоковольтные азиды металлов. При утилизации смойте большим количеством воды, чтобы предотвратить накопление азидов. Дополнительную информацию см. в руководстве, выпускаемом Центрами контроля заболеваний<sup>11</sup>.

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Следует соблюдать указания по надлежащей лабораторной практике, а также все процедуры, рекомендованные при использовании ручного метода.
- Все реагенты стабильны до истечения указанного срока годности при условии соблюдения рекомендованных условий хранения.
- Бактериальная контаминация реагентов может привести к неправильным результатам.
- Замена SUREPATH® PreCoat Slides (предметных стекол PreCoat) на другие может привести к неоптимальным результатам.
- Избегайте распыливания и распыления жидкостей. Используйте соответствующие средства защиты рук и глаз, а также защитную одежду.
- SUREPATH® Preservative Fluid (жидкий консервант) обладает бактерицидным действием и был проверен на действие против следующих микробов: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* и *Aspergillus niger*. Однако следует постоянно соблюдать универсальные меры предосторожности по обращению с биологическими жидкостями.

## 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 Папаниколау). Оставшийся после отбора объем достаточен для теста по Папаниколау.

Несмотря на отсутствие свидетельств о влиянии отбора аликвоты из SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе 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 (флаконе для забора мазка с жидким консервантом).

При отборе аликвоты из образцов с низкой насыщенностью клетками в SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе для забора мазка с жидким консервантом) может остаться объем материала, недостаточный для выполнения теста SUREPATH® Pap (тест по Папаниколау).

Аликвоту следует отбирать перед выполнением теста SUREPATH® Pap (теста по Папаниколау). Допускается отбор только одной аликвоты из SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе для забора мазка с жидким консервантом) до выполнения теста по Папаниколау, независимо от объема аликвоты.

## Методика

- Для обеспечения однородности смеси необходимо встряхивать SurePath® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе для забора мазка с жидким консервантом) в течение 10 – 20 с. Затем в течение одной минуты следует отобрать аликвоту 0,5 мл.
- 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 (флаконе 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.
- 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 Папаниколау.

- Инструкции по обработке аликвоты в анализах амплифицированных ДНК BD ProbeTec™ CT Q<sup>+</sup> и GC Q<sup>+</sup> см. на листках-вкладышах в упаковках наборов для анализа, предоставленных их производителями.

## НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

### Предоставляемые материалы

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (флаконе для забора мазка с жидким консервантом)
- PREPSTAIN® Density Reagent (плотный реагент)
- PREPSTAIN® Settling Chambers (осадочные камеры)
- SUREPATH® PreCoat Slides (предметные стекла PreCoat)
- Центрифужные пробирки
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипетки)
- Наконечники аспиратора

### Необходимые, но не предоставленные материалы

- Центрифуга
- Штативы для микропрепаратов
- Модульный аспиратор (необязательно)
- Лоток для обработки (необязательно)
- Приспособление типа «метелка» или эндоцервикальное комбинированное устройство типа щеточки-шпателя со съемной головкой (головками) для взятия мазка
- Устройство для встряхивания
- Точные пипетки со съемными наконечниками
- Деионизированная вода (pH 7,5 – 8,5)
- Изопропиловый спирт и химически чистый этиловый спирт
- Реагенты для окрашивания
- Осветляющее средство, среда для заливки и покровные стекла

## ХРАНЕНИЕ

- SUREPATH® Preservative Fluid (жидкий консервант) без цитологических образцов может храниться 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<sup>+</sup> и GC Q<sup>+</sup> 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<sup>+</sup>.

## ПРОЦЕДУРЫ

- После взятия мазка с помощью Cervex-Brush® компании Rovars или аналогичного устройства для взятия мазка снимите головку устройства с ручки и поместите во флакон с SUREPATH® Preservative Fluid (жидким консервантом). Закройте флакон пробкой, прикрепите этикетку и отправьте в лабораторию.
- После регистрации флаконов с образцами в лаборатории поместите каждый флакон в штатив для обработки в комплекте с маркированной центрифужной пробиркой, в которую заранее помещено 4 мл PREPSTAIN® Density Reagent (плотного реагента) и маркированного SUREPATH® PreCoat Slide (микропрепарата PreCoat). PREPSTAIN® Density Reagent (плотный реагент) следует добавить в пробирку до того, как туда будет добавлен образец, иначе качество процедуры снизится.
- Энергично встряхните каждый флакон с образцом в течение 10 – 20 секунд.  
(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. Оставшийся после отбора объем достаточен для теста по Папаниколау. Отбор аликвоты может производиться после встряхивания в ходе теста с жидким консервантом SUREPATH®.)
  - Перенесите образец с помощью PREPMATE™ Automated Accessory (дополнительного автоматического устройства) и PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипеток). См. инструкции в руководстве по эксплуатации устройства PREPMATE.  
**ИЛИ**
  - Снимите крышку с флакона. Держа SUREPATH® Preservative Vial (флаконе с консервантом) в одной руке, аккуратно введите PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипетки) во флакон до упора. При этом конец PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипеток) следует направлять в противоположную сторону от собственного лица. Переверните флакон вместе с PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипетками) в пронумерованную соответствующим образом пробирку с PREPSTAIN® Density Reagent (плотным реагентом). Дождитесь, пока раствор образца полностью вытечет из PREPSTAIN® Syringing Pipettes (шприц-пипеток), прежде чем продолжить работу.  
**ИЛИ**
  - Снимите крышку с флакона. Медленно вылейте примерно 8 мл образца на PREPSTAIN® Density Reagent (плотный реагент).
- Поместите пробирки в штативы центрифуги в порядке, указанном на диаграмме последовательности расположения в руководстве по эксплуатации (каждый штатив вмещает до 12 пробирок). Последовательность размещения пробирок очень важна. Должен соблюдаться баланс.
- При необходимости сбалансируйте центрифужные пробирки добавлением консервирующей жидкости и центрифугируйте образцы в течение 2 минут при 200 g.

6. При использовании модульного аспиратора включите систему Easy Aspirator и установите давление  $230 \pm 50$  мм рт. ст. Наденьте на аспиратор системы Easy Aspirator чистые наконечники.
7. Извлеките штативы центрифужных пробирок из центрифуги. Медленно опустите наконечники системы Easy Aspirator (или одноразовые пипетки для переноса) в центрифужные пробирки для удаления надосадочной фракции. По завершении устройство аспирации должно касаться верха пробирки. Между образцами промывайте наконечники аспиратора водой.
8. Центрифугируйте пробирки в течение 10 минут при 800 g, чтобы сконцентрировать диагностический компонент в клеточный осадок на дне пробирки.
9. Извлеките штатив с пробирками из центрифуги. Осторожно и быстро слейте жидкость в раковину. Держа штатив перевернутым, осторожно промокните пробирки фильтровальной бумагой так, чтобы клеточный осадок остался в пробирке.
10. Пометьте SUREPATH® PreCoat Slide (предметное стекло PreCoat) номером каждого образца, стараясь не касаться поверхности SUREPATH® PreCoat Slide (предметного стекла PreCoat). Поместите предметные стекла в штатив и установите на каждое предметное стекло PREPSTAIN® Settling Chamber (осадочную камеру). Положение каждого пронумерованного SUREPATH® PreCoat Slide (предметного стекла PreCoat) должно соответствовать положению соответствующей центрифужной пробирки.
11. Добавьте 4 мл деионизированной воды (pH 7,5 – 8,0) в каждую пробирку и хорошо перемешайте встряхиванием.
12. Обработывая пробирки с образцами по одной, перемешивайте их встряхиванием и немедленно перенесите 800 мкл клеточной суспензии в соответственно пронумерованную PREPSTAIN® Settling Chamber (осадочную камеру) на SUREPATH® PreCoat Slide (предметном стекле PreCoat). Повторите операцию для каждого образца.
13. Подождите 10 минут, чтобы произошло полное осаждение. После осаждения осторожно переверните лотки с предметными стеклами над раковиной, чтобы слить оставшуюся жидкость, и промокните лишнюю жидкость фильтровальной бумагой.
14. Промойте каждую PREPSTAIN® Settling Chamber (осадочную камеру) 500 мкл денатурированного этилового спирта и слейте жидкость. Повторите промывание спиртом, слейте лишнюю жидкость и промокните фильтровальной бумагой, держа образцы перевернутыми не менее 1 минуты.
15. Удалите PREPSTAIN® Settling Chamber (осадочную камеру).
16. Окрасьте микропрепараты SUREPATH® и закройте их покровными стеклами.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

- К препаратам на жидкой основе, приготовленным по методу компании TriPath Imaging®, Inc., можно применять все диагностические критерии, применяемые в настоящее время в цитологических лабораториях для традиционных мазков по Папаниколау.
- Любые патологические или сомнительные явления, обнаруженные при скрининговом исследовании, должны быть направлены патологу для ознакомления и диагноза. Любые морфологические изменения клеток важны и должны быть отмечены.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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.

ВСЕ ПРАВА ЗАЩИЩЕНЫ.

BD, логотип BD и BD ProbeTec являются товарными знаками компании Becton, Dickinson and Company. © BD, 2011

## METODA MANUALNA

### Proces przygotowywania komórek do zastosowań ginekologicznych

REF 490529 REF 490635

#### PRZEZNACZENIE

##### Do stosowania w diagnostyce in vitro

Metoda manualna to metoda wytwarzania płynnych preparatów komórkowych (ang. liquid-based cell preparations — LBP). Metoda manualna ma zastąpić w badaniach przesiewowych raka szyjki macicy konwencjonalną metodę przygotowywania rozmazu.

SUREPATH® Preservative Fluid (płyn konserwujący) to podłoże odpowiednie do pobierania i przenoszenia próbek ginekologicznych badanych za pomocą BD ProbeTec™ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> oraz *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> wykorzystujących amplifikację DNA. Należy zapoznać się z ulotkami dotyczącymi przygotowania próbek do ww. oznaczeń z zastosowaniem SUREPATH® Preservative Fluid (płynu konserwującego).

#### STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Badania przesiewowe cytologii szyjki macicy metodą Papanicolaou (Pap) obejmują mikroskopowe badanie próbek komórek pobranych głównie z części pochwowej szyjki macicy oraz z szyjki macicy, wykonywanie rozmazu na szklanym szkiełku podstawowym oraz barwienie przy użyciu procedury Pap.<sup>1,2,3</sup> Badanie przesiewowej cytologii szyjki macicy przy użyciu rozmazów metodą Pap zmniejszyło o 50 do 70 procent śmiertelność wywołaną inwazyjnym rakiem szyjki macicy.<sup>4</sup> Ponieważ cytologia szyjki macicy jest badaniem przesiewowym, wyniki nieprawidłowe należy potwierdzić histologicznie.

W przypadku rozmazów Pap niezwykle istotne jest pobieranie oraz preparatyka próbek. Do uzyskania pełnej dokładności niezbędna jest randomizacja lub prawidłowe pobranie podrób (ang. sub-sampling) – wyodrębnionych z jednej, całkowitej próby. Konwencjonalna technika rozmazów Pap nie wymaga mieszania próbki przed przygotowaniem szkiełka podstawowego. Ze względu na przyleganie komórek do śluzu w przyrządzie do pobierania próbek, komórki przeniesione na szkiełko podstawowe mogą nie być reprezentatywne dla ogółu pobranej populacji. Komórki są przenoszone na szkiełko podstawowe w zależności od miejsca, w którym się znajdowały na przyrządzie do pobierania próbek. Wiele komórek pozostaje na przyrządzie.<sup>5</sup>

Brak jednorodności typowej próbki komórek szyjki macicy może utrudnić przygotowywanie, ocenę oraz interpretację rozmazu. Duże powierzchnie konwencjonalnego szkiełka podstawowego są często pokryte zanieczyszczeniami, komórkami zapalnymi oraz płatami komórek nabłonka, które mogą zaciemnić materiał wartościowy diagnostycznie. Jeżeli ponadto rozmazy nie zostaną utrwalone natychmiast po przygotowaniu, morfologię komórek może zaburzyć wysychanie rozmazu (artefakty wywołane suszeniem na powietrzu).

Metoda manualna ma na celu przekształcenie płynnej zawiesiny próbki komórek szyjki macicy w równomiernie zabarwione, jednorodne szkiełko podstawowe SUREPATH® zachowujące diagnostyczne gniazda komórek.<sup>6,7,8,9</sup> Obróbka obejmuje konserwację

komórek, randomizację, wzbogacanie materiału diagnostycznego, pipetowanie oraz sedymentację w celu utworzenia preparatu komórkowego. Rezultatem procesu preparatyki jest szkiełko podstawowe SUREPATH® stosowane w rutynowych cytologicznych badaniach przesiewowych oraz kategoryzacjach zdefiniowanych przez system Betesda.<sup>10</sup>

#### ZASADY PROCEDURY

Metoda manualna to procedura przygotowywania LBP komórek szyjki macicy. Próbkę ginekologiczną są pobierane przez wykwalifikowany personel medyczny przy użyciu przyrządów typu miotłka (np. Cervex-Brush®) lub przyrządów będących połączeniem plastikowej szpatułki oraz szczoteczki (np. Cytobrush® Plus GT i szpatułka Pap-Perfect®, MedScand (USA), Inc.) z odłączanymi główkami. Główna szczoteczka jest zdejmowana z uchwytu i umieszczana w fiolce z SUREPATH® Preservative Fluid (płynem konserwującym). Fiolka jest zamykana, opisywana i wraz z odpowiednią dokumentacją wysyłana do laboratorium w celu obróbki.

W laboratorium zakonserwowane próbki są mieszane na wytrząsarce i przenoszone do probówek zawierających PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia). Podczas etapu wzbogacania obejmującego sedymentację podczas wirowania przez PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia) z próbki częściowo usuwane są zanieczyszczenia oraz nadmiar komórek zapalnych. Po odwirowaniu probówka zawierająca wzbogacone komórki jest rekonstruowana w wodzie dejonizowanej (DI), a materiał komórkowy jest resuspendowany przy użyciu pipety i sekwencji odsysania / dozowania. Następnie materiał próbki jest przenoszony do komory osadczącej PREPSTAIN® zamontowanej na SUREPATH® PreCoat (szkiełku podstawowym). Podczas krótkiego okresu inkubacji ma miejsce sedymentacja grawitacyjna. Nadmiar materiału jest dekantowany. SUREPATH® PreCoat (szkiełko podstawowe) jest barwione, przemywane i nakrywane szkiełkiem nakrywkowym. Komórki znajdują się w krążku o średnicy 13 mm. Szkiełko podstawowe SUREPATH® jest oceniane przez przeszkolonych diagnostów (cytologów i patologów) w połączeniu z odpowiednimi informacjami na temat pacjentki.

#### OGRANICZENIA

- Próbkę ginekologiczną do przygotowywania w metodzie manualnej należy pobierać przy użyciu przyrządu typu miotłki zgodnie z dostarczoną przez producenta standardową procedurą pobierania próbek.
- Produkcja oraz ocena płynnych preparatów przy użyciu wyposażenia firmy TRIPATH Imaging®, Inc powinna być wykonywana wyłącznie przez personel przeszkolony przez firmę TRIPATH lub inne organizacje upoważnione przez firmę TRIPATH do prowadzenia takich szkoleń.
- W celu uzyskania prawidłowych wyników należy stosować wyłącznie materiały dostarczane lub zalecane przez firmę TRIPATH Imaging®, Inc. 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 ± 0,5 mL pobranej do SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (fiolki z płynem konserwującym).

#### OSTRZEŻENIA

- SUREPATH® Preservative Fluid (płyn konserwujący) zawiera roztwór denaturowanego etanolu i nie jest przeznaczony do spożycia przez ludzi. Mieszanina zawiera niewielkie ilości metanolu oraz izopropanolu, które w przypadku spożycia mogą być szkodliwe oraz powodować ślepotę.
- PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia) zawiera azydek sodu. Azydek sodu może reagować z ołowiem lub miedzią zawartymi w instalacjach wodociągowych, tworząc bardzo wybuchowe azydki metali. Podczas utylizacji mieszaninę należy spłukać dużą ilością wody, aby zapobiec osadzeniu się azydku. Dodatkowe informacje znajdują się w broszurach wydawanych przez Centers for Disease Control.<sup>11</sup>

#### ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Oczekuje się, że przestrzegane będą zasady dobrej praktyki laboratoryjnej oraz wszystkie procedury stosowania metody manualnej.
- Wszystkie odczynniki są stabilne do czasu upływu ich terminów przydatności pod warunkiem przestrzegania i zachowywania zalecanych warunków przechowywania.
- Mikrobiologiczne skażenie odczynników może dawać wyniki nieprawidłowe.
- Zastosowanie szkiełek podstawowych innych niż SUREPATH® PreCoat może dawać wyniki poniżej optymalnych.
- Unikać chlapania oraz wytwarzania aerozoli. 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*. Jednak przez cały czas należy stosować powszechne środki ostrożności dotyczące bezpiecznej pracy z płynami biologicznymi.

## 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 pobieranie 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 komórkoowości 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 fiolki z płynem konserwującym SurePath®, 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 pipecie 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<sup>x</sup> i GC Q<sup>x</sup> wykorzystujących

amplifikację DNA znajdują się w ulotkach dołączonych do pakietu przez producenta.

## MATERIAŁY WYMAGANE

### Dostarczane materiały

- SUREPATH® Preservative Fluid Collection Vial (fiolka z płynem konserwującym)
- PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia)
- Komory osadcze PREPSTAIN®
- SUREPATH® PreCoat (szkiełka podstawowe)
- Probówki do wirowania
- PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipety strzykawkowe)
- Końcówki aspiratora

### Materiały wymagane, ale niedostarczane

- Wirówka
- Statywy szkiełek podstawowych
- Przyrząd „Easy Aspirator” (opcja)
- Podajnik do obróbki (opcja)
- Przyrząd do pobierania próbek typu miotłki lub szczoteczka/plastikowa szpatułka z odłączanymi główkami
- Wytrząsarka
- Precyzyjne pipety z końcówkami jednorazowymi
- Woda dejonizowana (pH 7,5 do 8,5)
- Izopropanol oraz alkohol o czystości do analiz
- Odczynniki do barwienia
- Środek czyszczący, medium do zatapiania oraz szklane szkiełka nakrywkowe

## PRZECHOWYWANIE

- SUREPATH® Preservative Fluid (płyn konserwujący) bez próbek cytologicznych można przechowywać w temperaturze pokojowej (15° do 30°C) przez okres do 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<sup>x</sup> i GC Q<sup>x</sup> można przechowywać i transportować w temperaturze 2 – 30°C przez okres do 30 dni przed przeniesieniem do próbek do rozcieńczenia próbek cytologii płynnej (ang. Liquid-Based Cytology, LBC) dla wykorzystujących amplifikację DNA oznaczeń ProbeTec™ Q<sup>x</sup>.

## PROCEDURY

1. Po pobraniu próbki przyrządem Rovers Cervex-Brush® lub podobnym, główka szczoteczki jest zmywana bezpośrednio do płynu, uchwyt jest zdejmowany, a główka wpada do fiolki z SUREPATH® Preservative Fluid (płynem konserwującym). Fiolka jest zamykana, opisywana i wysyłana do laboratorium.
2. Po dotarciu próbek do laboratorium każda fiolka jest umieszczana na podajniku obróbki wraz z odpowiednio opisanymi probówkami do wirowania zawierającymi 4 mL PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnika do wirowania w gradiencie stężenia) oraz SUREPATH® PreCoat (szkiełkami podstawowymi). PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia) musi być dodany do próbki przed umieszczeniem tam próbki lub nastąpi spadek wydajności metody.
3. Fiolki z próbkami należy wytrząsać przez 10 – 20 sekund. 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 przy zachowaniu objętości wystarczającej do wykonania testu Pap. Pobieranie porcji roztworu można wykonać po etapie mieszania na wytrząsarce podczas procesu testu SUREPATH® LBC.
  - Do przenoszenia próbki należy użyć automatycznego urządzenia PREPMATE™ oraz PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipet strzykawkowych). Szczegółowe instrukcje postępowania znajdują się w podręczniku operatora PREPMATE™. **Lub**
  - Zdjąć zatyczkę fiolki. Trzymając w jednej ręce SUREPATH® Preservative Vial (fiolkę), delikatnie wsunąć do fiolki PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipetę strzykawkową), kierując koniec PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipety strzykawkowej) z dala od twarzy. Przenieść zawartość fiolki / PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipety strzykawkowej) do odpowiednio ponumerowanej próbki z PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnikiem do wirowania w gradiencie stężenia). Przed przejściem do kolejnego punktu należy poczekać, aż z PREPSTAIN® Syringing Pipettes (pipety strzykawkowej) odcieknie całość roztworu próbki. **Lub**
  - Zdjąć zatyczkę fiolki. Powoli zlać około 8 mL próbki na PREPSTAIN® Density Reagent (odczynnik do wirowania w gradiencie stężenia).
4. Umieścić próbki na statywie wirówki zgodnie ze schematem sekwencji rozmieszczania w podręczniku procedury (każdy statyw mieści 12 próbek). Sekwencja rozmieszczania ma istotne znaczenie i musi być odpowiednio zrównoważona.
5. Probówki do wirowania należy zrównoważyć poprzez dodanie do nich w razie konieczności płynu konserwującego i wirować przez 2 minuty (200 x g).

6. Jeżeli stosowany jest Easy Aspirator, należy go włączyć i ustawić ciśnienie na  $23 \pm 5$  mmHg ( $9 \pm 2$  cala Hg). Na aspiratorze Easy Aspirator należy umieścić czyste końcówki.
7. Wyjąć z wirówki statywy do wirowania. Powoli opuścić końcówki aspiratora Easy Aspirator (lub jednorazowe pipety do przenoszenia) do probówek do wirowania w celu odessania supernatantu. Po zakończeniu końcówka aspiratora powinna dotykać szczytu probówek. Końcówki aspiratora pomiędzy odsysaniem kolejnych próbek należy przemywać wodą.
8. Odwirować probówki przez 10 minut (800 x g) w celu zagęszczenia elementu diagnostycznego do osadu na dnie probówki.
9. Wyjąć z wirówki statywy do wirowania. Delikatnie i szybko zdekantować do zlewu. Odwracając statywę odsączyć probówki na papierze pochłaniającym zwracając uwagę, aby osad komórek pozostał w probówce.
10. Opisać SUREPATH<sup>®</sup> PreCoat (szkiełko podstawowe) numerem próbki zwracając uwagę, aby nie dotknąć powierzchni SUREPATH<sup>®</sup> PreCoat (szkiełko podstawowe). Umieścić szkiełko podstawowe na statywie szkiełek podstawowych i zablokować na każdym szkiełku komorę osadczą PREPSTAIN<sup>®</sup>. Położenie każdego ponumerowanego SUREPATH<sup>®</sup> PreCoat (szkiełko podstawowe) musi odpowiadać położeniu odpowiedniej probówki do wirowania.
11. Do każdej probówki dodać 4 mL wody dejonizowanej (pH od 7,5 do 8,0) i dokładnie wymieszać na wytrząsarce.
12. Pracować z jedną probówką jednocześnie, wytrząsając probówkę i natychmiast nanosząc 800 µL zawiesiny komórek na odpowiednio ponumerowaną komorę osadczą PREPSTAIN<sup>®</sup> / SUREPATH<sup>®</sup> PreCoat (szkiełko podstawowe). Czynność powtórzyć dla każdej próbki.
13. Umożliwić pełną sedymentację trwającą 10 minut. Po zakończeniu sedymentacji delikatnie odwrócić płytkę nad zlew w celu zdekantowania pozostałego płynu, a następnie odsączyć resztki płynu na papierze pochłaniającym.
14. Przemyć każdą komorę osadczą PREPSTAIN<sup>®</sup> 500 µL denaturowanego etanolu i zdekantować. Powtórzyć przemywanie alkoholem oraz zdekantowanie nadmiaru płynu oraz odsączanie pozostałości płynu na papierze pochłaniającym. Płytki powinny pozostać odwrócone przez co najmniej 1 minutę.
15. Zdjąć komorę osadczą PREPSTAIN<sup>®</sup>.
16. Szkiełko podstawowe SUREPATH<sup>®</sup> wybarwić oraz przykryć szkiełkami nakrywkowymi.

## WYNIKI ORAZ INTERPRETACJA

- Wszystkie kryteria, jakie laboratorium cytologiczne aktualnie stosuje wobec konwencjonalnych rozmazów Pap, mają także zastosowanie wobec ciekłych preparatów firmy TRIPATH Imaging<sup>®</sup>.
- Wszelkie nieprawidłowe lub kwestionowane wyniki badania przesiewowego należy przekazać do oceny i diagnozy patologa. Wszelkie zmiany morfologiczne są istotne i należy je notować.

## PIŚMIENICTWO

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep<sup>®</sup> Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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.

BD, logo BD Logo oraz BD ProbeTec są znakami towarowymi Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD

## RANKINIS METODAS

### Ląstelių paruošimo procesas ginekologiniams naudojimui

REF 490529

REF 490635

### NAUDOJIMO PASKIRTIS

#### Naudoti in vitro diagnostikai

Rankinis metodas – tai ląstelių skysčių ruošinių (LBP) gaminimo metodas. Rankinis metodas naudojamas kaip įprasto PAP tepinėlio paruošimo metodo, naudojamo atliekant patikrą dėl gimdos kaklelio vėžio, pakaitas.

„SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) yra tinkama ginekologinių mėginių, tiriamų „BD ProbeTec“ *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>5</sup> ir *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>6</sup> amplifikuotų DNR tyrimais, ėmimo ir gabenimo terpė. Nurodymus, kaip naudoti „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) ruošiant mėginius įvairiems tyrimams, rasite tyrimo pakuotės informaciniuose lapeliuose.

### SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Atliekant gimdos kaklelio citologinę patikrą, Papanicolaou (PAP) metodu, mikroskopiškai tiriami ląstelių mėginiai, anksčiau paimti iš gimdos kaklelio išorės ir vidaus, užtepti ant stiklinių skaidrių ir dažomi taikant PAP procedūrą<sup>1,2,3</sup>. Atliekant gimdos kaklelio citologines patikras paimant PAP tepinėlių 50 – 70 proc. sumažėjo mirtingumas nuo invazinės gimdos kaklelio karcinomos.<sup>4</sup> Gimdos kaklelio citologija yra patikros testas, todėl rezultatus, kai įtariamas nenormalių ląstelių buvimas, būtina patvirtinti atlikus histologinį tyrimą.

Mėginių paėmimas ir paruošimas yra itin svarbios procedūros, užtikrinančios PAP tepinėlių tikslumą. Kad būtų užtikrintas visiškas tikslumas, būtinos atsiktinio ėmimo arba vienodos papildomo mėginių ėmimo procedūros. Taikant įprastą PAP tepinėlio techniką mėginio negalima maišyti prieš paruošiant jį perkelti ant skaidrės. Ląstelės ant mėginių ėmimo įrankio yra susimaišiusios su gleivėmis, todėl ant skaidrės perkeliama ląstelės gali neatspindėti visos paimtų ląstelių populiacijos. Ląstelės ant skaidrės perkeliama atitinkamai pagal tai, kur jos yra ant mėginių ėmimo įrankio. Daug ląstelių paliekama ant įrankio.<sup>5</sup>

Dėl įprasto gimdos kaklelio mėginio nevienodumo įprastus tepinėlius gali būti sunku paruošti, tikrinti ir interpretuoti gautus rezultatus. Didelė dalis įprastos skaidrės dažnai padengta nuosėdomis, uždegiminėmis ląstelėmis ir epitelio ląstelių sluoksniais – tai gali kliudyti gauti patikimus diagnostikos duomenis. Be to, jei tepinėlis nefiksuojamas iškart jį paruošus, gali būti deformuojama ląstelių morfologija, nes tepinėlis išdžiūsta (oro sausavimo artefaktas).

Rankinis metodas – tai skystos gimdos kaklelio ląstelių mėginio suspensijos konvertavimo į nuosekliai nudažytą homogeninį sluoksnį ant „SUREPATH slide“ (skaidrės), išlaikant diagnostines ląstelių sankaupas, metodas.<sup>6,7,8,9</sup> Šis procesas apima ląstelių konservavimą, atsiktinį ėmimą, diagnostinės medžiagos sodrinimą, lašinimą pipete ir nusėdimą, siekiant paruošti ląstelių ruošinį. Paruošimo proceso rezultatas – „SUREPATH slide“ (skaidrė), naudojama atliekant įprastinę citologinę patikrą ir klasifikavimą, kaip nurodo „Bethesda“ sistema.<sup>10</sup>

### PROCEDŪROS PRINCIPAI

Rankinis metodas – tai gimdos kaklelio ląstelių LBP paruošimo procedūra. Ginekologinius mėginius paima kvalifikuoti medicinos darbuotojai, naudojantys šepetėlio tipo įrankius (pvz., „Cervex-Brush“) arba jungtinius plastikines mentelės ir endocervikalius šepetėlio įrankius (pvz., „Cytobrush Plus GT“ ir „Pap-Perfect“ mentelę, „MedScand Inc.“ (JAV) su nuimamomis galvutėmis. Šepetėlio galvutė nuimama nuo rankenėlės ir įdedama į „SUREPATH Preservative fluid“ (konservavimo skysčio) buteliuką. Buteliukas uždaromas dangteliu, pažymimas etikete ir su atitinkamais dokumentais siunčiamas apdoroti į laboratoriją.

Laboratorijoje konservuotas mėginys maišomas sukamaisiais judesiais ir perkeliama į mėgintuvėlį, kuriame yra „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento). Taikant sodrinimo procedūrą, kurią sudaro centrifuguojant atliekamas nusėdinimas naudojant „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentą), iš mėginio iš dalies pašalinamos nedidinės liekanos ir uždegiminių ląstelių perteklius. Baigus centrifugavimą mėgintuvėlis, kuriame yra pagerintas ląstelių komponentas, atkuriamas dejonizuotu vandeniu ir ląstelių medžiaga iš naujo sustabdoma naudojant pipetę, pakaitomis atliekant išsiurbimą / paskirstymą. Tada mėginio medžiaga perkeliama ant „PREPSTAIN SETTLING CHAMBER“ (nusėdinimo kameroje) įtaisytos „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidrės). Trumpos inkubacijos metu įvyksta nusėdinimas, veikiant sunkio jėgai. Perteklinės medžiagos dekantuojamos. „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidrė) dažoma, valoma ir uždengiama dengiamuoju stikleliu, o ląstelės yra 13 mm skersmens apskritime. „SUREPATH slide“ (skaidrė) tiria specialiai apmokyti citopatologijos technologai ir patalogai, atsižvelgdami į kitą susijusią pacientų informaciją.

### APRIBOJIMAI

- Ginekologiniai mėginiai, paruošiami naudojant rankinį metodą, turi būti imami naudojant šepetėlio tipo įrankį laikantis standartinės gamintojo pateikiamos mėginių ėmimo procedūros.
- „TRIPATH Imaging, Inc“ skysčių ruošinius gaminti ir įvertinti gali tik tokie darbuotojai, kuriuos mokė „TRIPATH“ arba kitos įmonės, „TRIPATH“ įgaliotos rengti tokius mokymus.
- Kad prietaisai tinkamai veiktų, reikia naudoti tik „TRIPATH Imaging, Inc“ teikiamus arba rekomenduotus priedus. Naudojamus priedus reikia tinkamai šalinti pagal įmonės ir vietinės taisykles.
- 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).

### ĮSPĖJIMAI

- „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) – tai skiestas denatūruoto etanolio tirpalas, jis nėra skirtas vartoti žmonėms. Mišinyje yra nedideli kiekiai metanolio ir izopropanolio, kurie prarijus gali būti kenksmingi ir sukelti aklumą.

- „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentas) yra natrio azido. Natrio azidas gali reaguoti su švino ir vario dariniais ir sudaryti itin sprogius metalų azidus. Pašalindami nuplaukite dideliu kiekiu vandens, kad nesusikauptų azido. Išsamesnės informacijos rasite Ligų kontrolės ir prevencijos centrų išleistame vadove.

### ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Būtina laikytis geros laboratorinės praktikos ir griežtai vadovautis visomis rankinio metodo produkto naudojimo procedūromis.
- Visus reagentus galima laikyti iki jų galiojimo laikotarpio pabaigos, jei laikomasi rekomenduojamų laikymo sąlygų.
- Jei reagentai yra užteršti mikroorganizmų, rezultatai gali būti netikslūs.
- Jei skaidrės pakeičiamos kitomis nei „SUREPATH PreCoat slides“ (skaidrėmis), rezultatai gali būti ne tokie optimalūs.
- Venkite taškymosi ar aerozolių susidarymo. Naudokite tinkamą rankų, akių ir drabužių apsaugą.
- „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystis) yra baktericidinis ir jis buvo patikrintas tiriant: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* bei *Aspergillus niger*. Tačiau visada reikėtų laikytis universalių saugaus darbo su biologiniais skysčiais atsargumo priemonių.

### 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 atlikti prieš „SUREPATH“ PAP tyrimą, paliekant pakankamai 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 lytiniu keliu plintančioms ligoms diagnozuoti, todėl bandinio ėmimas gali būti netinkamas visoms klinikinėms situacijoms. Jeigu reikia, lytiniu keliu 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

1. 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.
2. Imant bandinį reikia naudoti polipropileno aerozolius sulaikančius mikrodozatorius, kurių dydis atitiktų imamą kiekį.  
*Pastaba:* serologinių pipetėčių 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.
3. Vizualiai patikrinkite bandinio medžiagą pipetėje, ar nėra didelių dalelių arba pusiau kietųjų dalelių. Radus šių medžiagų imant bandinį, visą medžiagą reikia grąžinti į mėginių buteliuką ir nenaudoti mėginio papildomam tyrimui prieš atliekant PAP tyrimą.
4. Nurodymus apie bandinio apdorojimą naudojant „BD ProbeTec“ CT Q<sup>x</sup> ir GC Q<sup>x</sup> amplifikuotų DNR tyrimus rasite tyrimo gamintojo pakuotės informaciniame lapelyje.

## BŪTINOS MEDŽIAGOS

### Tiekiamos medžiagos

- „SUREPATH Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliukas)
- „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagentas)
- „PREPSTAIN Settling Chambers“ (nusėdimo kameros)
- „SUREPATH PreCoat slides“ (skaidrės)
- Centrifugavimo mėgintuvėliai
- „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetės)
- Aspiratoriaus antgaliai

### Būtinios, bet netiekiamos medžiagos

- Centrifuga
- Skaidrių stoveliai
- Paprastas aspiratorius (pasirenkama)
- Apdoravimo dėklas (pasirenkama)
- Šepetėlio tipo mėginių ėmimo įrankis arba endocervikalinis šepetėlis / plastikinė mentelė su nuimama (-omis) galvute (-ėmis)
- Sukamasis maišytuvas
- Tikslios pipetės su nuimamais antgaliais
- Dejonizuotas vanduo (pH 7,5 – 8,5)
- Izopropilo ir analiziškai grynas alkoholis
- Dažymo reagentai
- Valymo medžiaga, tvirtinimo terpė, dengiamieji stikleliai

## LAIKYMAS

- „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) be citologinių mėginių kambario temperatūroje (15 – 30 °C) galima laikyti iki 36 mėnesių nuo pagaminimo datos.
- „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skystį) su citologiniais mėginiais galima laikyti užšaldytus (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<sup>x</sup> ir GC Q<sup>x</sup> amplifikuotų DNR tyrimams, galima laikyti ir pervežti iki 30 dienų esant 2° – 30 °C temperatūrai prieš perkeliant į skysčio pagrindo citologinių mėginių (LBC) skiedimo mėgintuvėlius „BD ProbeTec“ Q<sup>x</sup> amplifikuotų DNR tyrimams.

## PROCEDŪROS

1. Paėmus mėginį naudojant „Rovers Cervex-Brush“ arba atitinkamą mėginių ėmimo įrankį, šepetėlio galvutę įmerkiamo tiesiai į skystį, nuėmus ją nuo rankenėlės ir įdėjus į „SUREPATH Preservative Fluid“ (konservavimo skysčio) buteliuką. Tada buteliukas sandariai uždaromas dangteliu, pažymimas etikete ir siunčiamas į laboratoriją.
2. Kai mėginių buteliukai patenka į laboratoriją, įdėkite kiekvieną buteliuką į apdoravimo dėklą su pažymėtu centrifugavimo mėgintuvėliu, iš anksto pripildytu 4 mL „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento), ir pažymėta „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidre). „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento) reikia įpilti į mėgintuvėlį prieš įdedant mėginį; kitu atveju pablogės veikimas.
3. Smarkiai sukite kiekvieną mėginio buteliuką 10 – 20 sekundžių. (Yra pakankamas kiekis „SUREPATH Preservative Fluid Collection Vial“ (konservavimo skysčio mėginių ėmimo buteliuke), kad būtų galima paimti iki 0,5 mL homogeniško ląstelių ir skysčio mišinio papildomam tyrimui, paliekant pakankamai mėginio PAP tyrimui. Bandinį galima paimti po sukimo „SUREPATH“ LBC tyrimo procese.)
  - Norėdami perkelti mėginį, naudokite „PREPMATE Automated Accessory“ (automatizuotą priedą) ir „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetes). Instrukcijas žr. „PREPMATE“ operatoriaus vadove. **Arba**
  - Nuimkite buteliuko dangtelį. Vienoje rankoje laikykite „SUREPATH Preservative Vial“ (konservavimo buteliuką), nukreipę „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetėčių) galą nuo savęs, švelniai stumkite „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetes) į buteliuką, kol jos sustos. Apverskite ir įdėkite buteliuką / „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetėčių) rinkinį į atitinkamą numeriu pažymėtą „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento) mėgintuvėlį. Prieš tęsdami darbą palaukite, kol visas mėginio tirpalas visiškai ištekės iš „PREPSTAIN Syringing Pipettes“ (švirškimo pipetėčių). **Arba**
  - Nuimkite buteliuko dangtelį. Lėtai užpilkite maždaug 8 mL mėginio ant „PREPSTAIN Density Reagent“ (tankio reguliavimo reagento).
4. Įdėkite mėgintuvėlius į centrifugos stovelius, vadovaudamiesi išdėstymo seka, pateikta procedūros vadovo diagramoje (kiekviename mėgintuvėlių stovelyje telpa 12 mėgintuvėlių). Įdėjimo seka yra labai svarbi ir turi būti išlaikyta pusiausvyra.
5. Subalansuokite centrifugavimo mėgintuvėlius, įpylę daugiau konservavimo skysčio, jei reikia; centrifuguokite mėginius 2 min. 200 x g.
6. Jei naudojamas paprastas aspiratorius, įjunkite jo sistemą ir sureguliuokite slėgį, kad būtų 9 ± 2 Hg. Nuvalykite paprastojo

aspiratoriaus antgalius.

7. Iš centrifugos išimkite centrifugavimo mėgintuvėlių stovelius. Lėtai išleiskite paprastojo aspiratoriaus antgalius (arba vienkartinės perkėlimo pipetes) į centrifugavimo mėgintuvėlius, kad būtų galima aspiruoti supernetatą. Kai procesas baigiamas, aspiravimo prietaisas turėtų prisiliesti prie mėgintuvėlių viršaus. Aspiratoriaus antgalius tarp mėginių skalaukite vandeniu.
8. Centrifuguokite mėgintuvėlius 10 min. 800 x g, kad diagnostikos komponentas susikoncentruotų į ląstelių granulę mėgintuvėlio apačioje.
9. Iš centrifugos išimkite mėgintuvėlio stovėlį. Švelniai ir greitai dekantaukite į kriauklę. Palikę stovėlį apverstą, atsargiai nusausinkite mėgintuvėlius sugeriamuoju popieriumi ir užtikrinkite, kad ląstelių granulė lieka mėgintuvėlyje.
10. Pažymėkite „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidre) kiekvieno mėginio numeriu, tačiau nepalieskite „SUREPATH PreCoat“ skaidrės. Įstatykite skaidrės į skaidrių stovėlį ir užfiksuokite „PREPSTAIN Settling Chamber“ (nusėdimo kamera) ant kiekvienos skaidrės. Kiekvienos sunumeruotos „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidrės) lėkštėje padėtis turi atitikti atitinkamo centrifugavimo mėgintuvėlio padėtį.
11. Į kiekvieną mėginį įpilkite 4 mL dejonizuoto vandens (pH 7,5 – 8,0) ir sukamaisiais judesiais gerai išmaišykite.
12. Vienu metu apdorodami vieną mėginio mėgintuvėlį, sukite mėgintuvėlį ir nedelsdami perkeltite 800 µl ląstelių suspensijos ant atitinkamo numeriu pažymėtos „PREPSTAIN Settling Chamber“ (nusėdimo kameros) / „SUREPATH PreCoat slide“ (skaidrės). Pakartokite tai su kiekvienu mėginiu.
13. Palaukite 10 minučių, kol bus visiškai nusėdinta. Po nusėdimo atsargiai apverskite skaidrės lėkštę (-es) virš kriauklės, kad būtų dekantuojamas visas likęs skystis, ir nusausinkite perteklinį skystį sugeriamuoju popieriumi.
14. Kiekvieną „PREPSTAIN Settling Chamber“ (nusėdimo kamerą) išskalaukite 500 µl denatūruoto etanolio ir jį išpilkite. Dar kartą išskalaukite alkoholiu ir dekantaukite likusį skystį bei nusausinkite skysčio perteklių sugeriamuoju popieriumi, palikdami kamerą apverstą mažiausiai 1 min.
15. Išimkite „PREPSTAIN Settling Chamber“ (nusėdimo kamerą).
16. Nudažykite ir uždenkite dengiamuoju stikleliu „SUREPATH SLIDES“ (skaidrės).

## REZULTATAI IR INTERPRETAVIMAS

- Visi diagnostikos kriterijai, kurie šiuo metu taikomi citologijos laboratorijose įprastiems PAP tepinėliams, yra taikomi „TriPATH Imaging, Inc“ skysčio ruošiniams gaminti.
- Visus neįprastus ar abejotinus patikros pastebėjimus reikėtų perduoti patologui peržiūrėti ir įvertinti. Bet kokie ląsteliniai morfologiniai pakitimai yra svarbūs ir į juos būtina atkreipti dėmesį.

## LITERATŪRA

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide--Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

## Technical Support

USA

Telephone: 1-877-822-7771

Fax: 1-336-290-8333

Europe

Telephone: +32 (0)53 720 673

Fax: +32 (0)53 720 678



„TriPath Imaging, Inc.“

780 Plantation Drive

Burlington, NC 27215 USA



„Benex Limited“

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ireland



©2011m. „TRIPATH IMAGING, INC.“

VISOS TEISĖS SAUGOMOS.

BD, „BD Logo“ ir „BD ProbeTee“ yra bendrovės „Becton, Dickerson and Company“ prekių ženklai. © BD, 2011 m.

# METODĂ MANUALĂ

## Un proces de pregătire a celulelor pentru aplicații ginecologice

REF 490529

REF 490635

### UTILIZARE SPECIFICĂ

#### În scopul diagnosticului in vitro

Metoda manuală este o metodă pentru producerea de preparate de celule pe bază de lichid (PBL). Metoda manuală are drept scop înlocuirea metodei convenționale de pregătire a frotiului Pap pentru utilizarea la depistarea cancerului de col uterin.

SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant) este un mediu corespunzător de colectare și transport pentru probele ginecologice testate cu BD ProbeTec *Chlamydia trachomatis* (CT) Q<sup>+</sup> și *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q<sup>+</sup> 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

Screening-ul citologic de col uterin prin metoda Papanicolaou (Pap) presupune examinarea microscopică a probelor de celule ce au fost prelevate în principal din exocervix și endocervix, întinse pe lamele de sticlă și colorate prin procedura Pap.<sup>1,2,3</sup> Screening-ul citologic de col uterin cu frotiu Pap a dus la scăderea ratelor de mortalitate cauzată de carcinomul de col uterin invaziv cu între 50 și 70 de procente.<sup>4</sup> Deoarece citologia de col uterin este un test de screening, rezultatele anormale trebuie confirmate histologic.

Colectarea și pregătirea probelor sunt extrem de importante pentru acuratețea frotiurilor Pap. Randomizarea sau sub-eșantionarea uniformă este esențială pentru acuratețe absolută. Tehnica frotiului Pap convențională nu prevede amestecarea eșantionului înainte de pregătirea lamelei. Din cauza prinderii celulelor în mucusul de pe dispozitivul de prelevare, celulele transferate efectiv pe lamelă pot să nu fie reprezentative pentru totalul populației colectate. Celulele sunt transferate pe lamelă în raport cu locul unde se aflau pe dispozitivul de prelevare. Multe celule rămân pe dispozitiv.<sup>5</sup>

Lipsa omogenității unui eșantion de col uterin tipic poate face dificilă pregătirea, screening-ul și interpretarea frotiurilor convenționale. Zone mari ale lamelei convenționale sunt acoperite adesea cu reziduuri, celule inflamatoare și straturi de celule epiteliale ce pot ascunde vederii material de diagnosticare valoros. În plus, dacă frotiul nu este fixat imediat după pregătire, morfologia celulară se poate distorsiona, deoarece frotiul se usucă (artefact de uscare în aer).

Metoda manuală este o metodă pentru convertirea unei suspensii lichide a unui eșantion de col uterin într-o lamelă SUREPATH omogenă și colorată complet, păstrând, în același timp, grupurile de celule de diagnosticare.<sup>6,7,8,9</sup> Procesul include conservarea celulelor, randomizarea, îmbogățirea materialului de diagnosticare, pipetarea și sedimentarea pentru a crea un preparat celular. Rezultatul procesului de pregătire este o lamelă SUREPATH pentru utilizare în screening și clasificare citologică de rutină, conform definiției din sistemul Bethesda.<sup>10</sup>

### PRINCIPIILE PROCEDURII

Metoda manuală este o procedură pentru pregătirea de PBL de celule de col uterin. Probele ginecologice sunt colectate de personal medical calificat, utilizând dispozitive tip perie (de ex. Cervex-Brush) sau o combinație formată dintr-o spatulă de plastic și dispozitive tip perie endocervicală (de ex. Cytobrush Plus GT și spatulă Pap-Perfect, MedScand (SUA), Inc.) cu capete detașabile. Capul periei este scos de pe mâner și plasat într-o fiolă de SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant). Se pune capacul fiolei, fiola este etichetată și trimisă împreună cu documentele corespunzătoare la laborator pentru procesare.

În laborator, eșantionul conservat este amestecat prin centrifugare și transferat într-un tub ce conține PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate). O etapă de îmbogățire, constând din sedimentarea centrifugală prin PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate), îndepărtează parțial din eșantion reziduurile inutile pentru diagnosticare și celulele inflamatoare în exces. După centrifugare, tubul ce conține componenta celulară îmbogățită este reconstituit cu apă D.I., iar materialul celular este resuspendat cu o pipetă, utilizând o secvență de aspirare/distribuire. Materialul eșantionului este apoi transferat într-o PREPSTAIN Settling Chamber (Cameră de decantare) montată pe o lamelă SUREPATH PreCoat. Sedimentarea gravitațională are loc în timpul unei incubării scurte. Materialul în exces se decantează. Lamela SUREPATH PreCoat este colorată, curățată și acoperită cu o lamelă de sticlă, cu celulele dispuse în formă de cerc, cu un diametru de 13 mm. Lamela SUREPATH este examinată de tehnicieni citologi și patologi calificați, împreună cu alte informații relevante despre pacient.

### LIMITĂRI

- Probele ginecologice pentru pregătirea cu ajutorul Metodei manuale trebuie recoltate utilizând un dispozitiv de tip perie, în conformitate cu procedura de recoltare standard furnizată de producător.
- Preparatele pe bază de lichid TRIPATH Imaging, Inc trebuie produse și evaluate doar de personal instruit de TRIPATH sau de către alte persoane autorizate de TRIPATH să ofere o astfel de instruire.
- Funcționarea corespunzătoare a dispozitivului necesită utilizarea exclusiv a acelor consumabile acceptate de TRIPATH Imaging, Inc sau recomandate de TRIPATH Imaging, Inc. Consumabilele folosite trebuie eliminate în mod corespunzător, în conformitate cu reglementările instituționale și guvernamentale.
- Toate consumabilele sunt de unică folosință și nu pot fi reutilizate.
- 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.

### AVERTISMENTE

- SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant) conține o soluție diluată de etanol denaturat și nu este destinat consumului uman. Amestecul conține cantități mici de metanol și izopropanol, ce pot fi dăunătoare și care pot cauza orbirea dacă sunt ingerate.
- PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate) conține azidă de sodiu. Azida de sodiu poate reacționa cu plumbul sau cu țevile de cupru și poate forma azide de metal puternic explozive. Când sunt eliminate, clățiți-le cu un volum mare de apă pentru a preveni formarea azidelor. Pentru informații suplimentare, consultați Ghidul Manual emis de Centrele de control și prevenire a bolilor<sup>11</sup>.

### PRECAUȚII

- Se așteaptă ca bunele practici de laborator să fie urmate și ca toate procedurile pentru utilizarea Metodei manuale să fie respectate cu strictețe.
- Toți reactivii sunt stabili până la datele de expirare menționate, cu condiția respectării și menținerii condițiilor de depozitare recomandate.
- Contaminarea microbiană a reactivilor poate duce la rezultate incorecte.
- Înlocuirea cu altfel de lamele decât lamelele SUREPATH PreCoat poate duce la rezultate care să nu fie optime.
- Evitați împrăștierea sau generarea de aerosoli. Utilizați echipament adecvat de protecție corporală, pentru mâini și ochi.
- SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant) este bactericid și a fost testat contra următoarelor: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* și *Aspergillus niger*. În orice caz, trebuie luate întotdeauna măsuri de precauție universale pentru manipularea în siguranță a lichidelor biologice.

### 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, 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 fiolă 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<sup>+</sup> și GC Q<sup>+</sup> Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat), consultați prospectul testului furnizat de producător.

#### MATERIALE NECESARE

##### Material furnizate

- SUREPATH Preservative Fluid Collection Vial (Fiolă de colectare cu lichid conservant)
- PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate)
- PREPSTAIN Settling Chambers (Camere de decantare)
- Lamele SUREPATH PreCoat
- Tuburi centrifuge
- PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipete cu seringă)
- Vârfuri de aspirare

##### Material necesare, dar nefurnizate

- Centrifugă
- Rackuri pentru lamele
- Aspirator simplu (opțional)
- Tavă de procesare (opțional)
- Dispozitiv de prelevare tip perie sau perie/spatulă de plastic endocervicală cu cap(ete) detașabil(e)

- Mixer de centrifugare
- Pipete de precizie cu vârfuri de unică folosință
- Apă deionizată (pH între 7,5 și 8,5)
- Izopropanol și alcool de clasă reactiv
- Reactivi de colorare
- Agent de curățare, mediu de montare, lamele de acoperire

#### DEPOZITARE

- SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant) fără eșantioane citologice poate fi depozitat la temperatura camerei (între 15° și 30° C) timp de maximum 36 de luni de la data fabricației.
- 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<sup>+</sup> și GC Q<sup>+</sup> 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<sup>+</sup> Amplified DNA Assays (Analize ADN amplificat).

#### PROCEDURI

1. După ce eșantionul este colectat utilizând Rovers Cervex-Brush sau un echipament de prelevare echivalent, capul periei este clătit direct în lichid, scos de pe mână și lăsat într-o fiolă de SUREPATH Preservative Fluid (Lichid conservant). Apoi se pune etanș capacul fiolei, fiolă este etichetată și trimisă la laborator.
2. Când fiolele de eșantion sunt primite în laborator, plasați fiecare fiolă în tava de procesare cu un tub centrifug etichetat, umplut în prealabil cu 4 mL de PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate) și cu o lamelă SUREPATH PreCoat etichetată. PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate) trebuie adăugat în tub înainte de adăugarea eșantionului, altfel performanța va fi redusă.
3. Centrifugați puternic fiecare fiolă de eșantion, timp de 10 – 20 de secunde. (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, rămânând un volum suficient și pentru testarea Pap. Extragerea părții alicote se poate face după această etapă de centrifugare din cadrul procesului SUREPATH LBC Test.)
  - Utilizați PREPMATE Automated Accessory (Accesoriu automat) și PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipete cu seringă) pentru a transfera eșantionul. Consultați Manualul operatorului PREPMATE pentru instrucțiuni. **Sau**

- Scoateți capacul fiolei. Țineți o SUREPATH Preservative Vial (Fiolă de conservant) într-o mână, împingeți ușor o PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipetă cu seringă) în fiolă, până se oprește, orientând capătul PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipetă cu seringă) astfel încât să nu fie îndepărtat spre fața dumneavoastră. Răsturnați ansamblul fiolă/PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipetă cu seringă) în tubul cu PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate) numerotat corespunzător. Permiteți scurgerea completă a soluției eșantionului din PREPSTAIN Syringing Pipettes (Pipetă cu seringă) înainte de a continua. **Sau**
  - Scoateți capacul fiolei. Turnați încet aproximativ 8 mL de probă pe PREPSTAIN Density Reagent (Reactiv de densitate).
4. Plasați tuburile în rackurile centrifuge, conform diagramei secvenței de plasare din Manualul procedurii (fiecare rack pentru tuburi are o capacitate de 12 tuburi). Secvența de plasare este critică și trebuie să fie echilibrată.
  5. Echilibrați tuburile centrifuge prin adăugarea de Lichid conservant dacă este necesar și centrifugați probele timp de 2 minute la 200 x g.
  6. Dacă se utilizează Aspiratorul simplu, porniți sistemul Aspiratorului simplu și reglați presiunea la 9 ± 2 in Hg. Puneți vârfuri curate pe sistemul de aspirare al Aspiratorului simplu.
  7. Scoateți rackurile pentru tuburile centrifuge din centrifugă. Coborâți încet vârfurile Aspiratorului simplu (sau pipetele de transfer de unică folosință) în tuburile centrifuge pentru a aspira supernatantul. Diapozitivul de aspirare trebuie să atingă partea de sus a tuburilor în momentul finalizării. Clătiți cu apă vârfurile aspiratorului între eșantioane.
  8. Centrifugați tuburile timp de 10 minute la 800 x g pentru a concentra componenta de diagnosticare într-o tabletă de celule la fundul tubului.
  9. Scoateți rackul pentru tuburi din centrifugă. Decantați ușor și rapid în chiuvetă. Menținând rackul răsturnat, tamponați cu grijă tuburile pe hârtie absorbantă, asigurându-vă că tableta de celule rămâne în tub.
  10. Etichetați câte o lamelă SUREPATH PreCoat cu fiecare număr de probă, având grijă să nu atingeți suprafața lamelei SUREPATH PreCoat. Puneți lamelele în rackul pentru lamele și fixați câte o PREPSTAIN Settling Chamber (Cameră de decantare) pe fiecare lamelă. Poziția fiecărei lamele SUREPATH PreCoat numerotate pe tavă trebuie să se potrivească cu poziția tubului centrifug corespunzător.
  11. Adăugați 4 mL de apă deionizată (pH 7,5 – 8,0) în fiecare tub cu probă și amestecați bine prin centrifugare.
  12. Lucrând cu câte un tub cu probă pe rând, centrifugați tubul și transferați imediat 800 µl de suspensie de celule în PREPSTAIN Settling Chamber (Cameră de decantare)/lamelă SUREPATH PreCoat numerotată corespunzător. Repetați pentru fiecare eșantion.
  13. Lăsați 10 minute să aibă loc sedimentarea completă. După sedimentare, răsturnați ușor tava (tăvile) cu lamele peste chiuvetă pentru a decanta lichidul rămas și transferați lichidul în exces pe hârtie absorbantă.

14. Clătiți fiecare PREPSTAIN Settling Chamber (Cameră de decantare) cu 500 µl de etanol denaturat și decantați. Repetați clătirea cu alcool și decantați lichidul rămas și transferați lichidul în exces pe hârtie absorbantă, lăsându-le să stea răsturnate cel puțin 1 minut.
15. Îndepărtați PREPSTAIN Settling Chamber (Cameră de decantare).
16. Colorați și acoperiți cu lamele de sticlă lamelele SUREPATH.

#### REZULTATE ȘI INTERPRETARE

- Toate criteriile de diagnosticare utilizate în prezent în laboratoarele citologice pentru frotiurile Pap convenționale sunt valabile și pentru preparatele pe bază de lichid TriPATH Imaging, Inc.
- Toate observațiile de screening anormal sau îndoielnic trebuie adresate unui patolog pentru examinare și diagnosticare. Orice modificare morfologică celulară este importantă și trebuie notată.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Papanicolaou GN: A New Procedure for Staining Vaginal Smears. Science 1942; 95: 438-439.
2. King A, Clay K, Felmar EG, Heustis DG, Karns RM, Krahl P, Tench WD: The Papanicolaou Smear. West J Med 1992; 156: 202-204.
3. Mandelblatt J, Gopaul I, Wistreich M: Gynecological Care of Elderly Women: Another Look at Papanicolaou Smear Testing. J Am Med Assoc 1986; 256: 367-371.
4. Koss LG: The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection: A Triumph and a Tragedy. J Am Med Assoc 1989; 261: 737-743.
5. Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglass KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous Sampling Accounts for the Increased Diagnostic Accuracy Using the ThinPrep® Processor. Am J Clin Pathol 1994; 101: 215-219.
6. 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.
7. 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.
8. Geyer JW, Hancock F, Carrico C, Kirkpatrick M: Preliminary Evaluation of CytoRich: An Improved Automated Cytology Preparation. Diagn Cytopathol 1993; 9: 417-422.
9. 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.
10. Kurman RJ, Solomon D: The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses. Springer-Verlag, 1994.
11. Manual Guide-Safety Management No. CDC-22, Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts, Center for Disease Control, Atlanta, Georgia, April 30, 1976.

#### Technical Support

USA  
Telephone: 1-877-822-7771  
Fax: 1-336-290-8333

Europe  
Telephone: +32 (0)53 720 673  
Fax: +32 (0)53 720 678



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.

TOATE DREPTURILE EZERVATE.

BD, sigla BD și BD ProbeTec sunt mărci comerciale ale Becton, Dickerson and Company. © 2011 BD