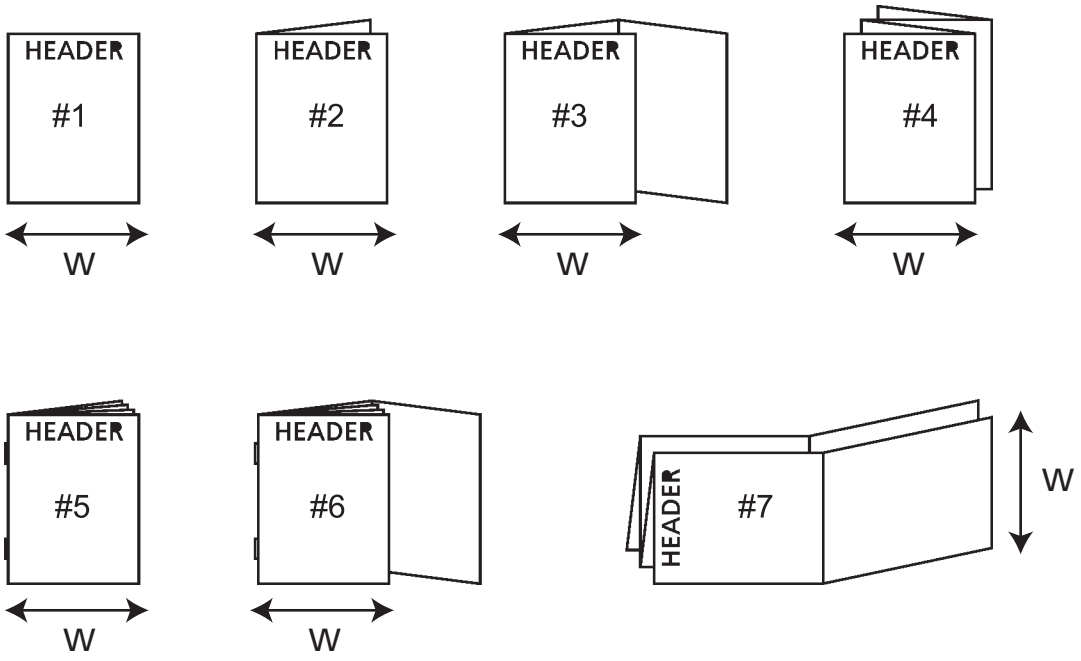
Revisions

Rev from	Rev to	JOB #
01	02	7354-15

NOTES:

1. BD Catalog Number: 491313, 491311, 491312,
2. Blank (Sheet) Size: Length: 11" Width: 8.5"
3. Number of Pages: 56 Number of Sheets: 28
4. Page Size: Length: 11" Width: 8.5" Final Folded Size: 8.5" x 11"
5. Ink Colors: No. of Colors: 2 PMS#: 032 Red; PMS Standard Black
6. Printed two sides: Yes [X] No [ ]
7. Style (see illustrations below): # 1 (3-hole punched); Stapled top left corner



8. BD Diagnostics inspects per procedure 838-07096-00 upon entry to their plant.
9. See specification control no. N/A for material information.
10. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

Label Design	REVISED BY By Nancy Carlsen at 9:18 am, Apr 22, 2015	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION.	BD Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA
Proofer	PROOFING APPROVED BY By Kim Stone at 9:22 am, Apr 22, 2015		
Checked By	THIRD EYE BY By Sarah Cork at 5:43 pm, Apr 29, 2015		
Part Number: 500006642		Category and Description: BD PrepStain System Package Insert	Sheet: 1 of 57 Scale: N/A

A

BD PrepStain™ System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate™** Consumables Kit
REF 491311	**BD PrepStain™** Consumables Kit
REF 491312	**BD PrepStain™** Consumables Kit – Japan

English: pages 1 – 9 Deutsch: Seiten 19 – 27 Español: páginas 37 – 45
Français : pages 10 – 18 Italiano: pagine 28 – 36 Português: páginas 46 – 54

Contact your local BD representative for instructions. / Свържете се с местния представител на BD за инструкзии. / Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Ota yhteys lähimpään BD:n edustajaan ohjeiden saamiseksi. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviseletétől. / Нұсқаулар үшін жергілікті BD өкілімен хабарласыңыз. / Lai saņemtu norādījumus, sazinieties ar vietējo BD pārstāvi. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Neem contact op met uw plaatselijke BD-vertegenwoordiger voor instructies. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o representante local da BD para instruções. / Pentru instrucţiuni, contactaţi reprezentantul local BD. / Для получения указаний обратитесь к местному представителю компании BD. / Inštrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Kontakta närmaste BD-representant för anvisningar. / Talimatlar için yerel BD temsilcinizle temasa geçin. / За інструкціями зверніться до місцевого представника компанії BD

INTENDED USE

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

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

SUMMARY AND EXPLANATION

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

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

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

*Note: For ancillary testing, the aliquot of up to 0.5 mL may be removed after this vortexing step in the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides.

LIMITATIONS

- Gynecologic specimens for preparations using the **BD PrepStain** System should be collected using a broom-type sampling device or an endocervical brush/plastic spatula combination with detachable head(s) according to the standard collection procedure provided by the manufacturer. Wooden spatulas should not be used with the **BD PrepStain** System. Endocervical brush/plastic spatula combinations that are not detachable should not be used with the **BD PrepStain** System.
- Training by authorized persons is a prerequisite for the production and evaluation of **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides. Cytotechnologists and pathologists will be trained in morphology assessment on the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides. Training will include a proficiency examination. Laboratory customers will be provided with the use of instructional slide and test sets. **BD** Diagnostics will also provide assistance in the preparation of training slides from each customer's own patient populations.
- Proper performance of the **BD PrepStain** System requires the use of only those supplies supported by, or recommended by **BD** Diagnostics, for use with the **BD PrepStain** System. Used supplies and product should be disposed of properly in accordance with institutional and governmental regulations.
- All supplies are intended for single use only and cannot be reused.
- A volume of 8.0 ± 0.5 mL of the sample collected in the **BD SurePath** Collection Vial is required for the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Cytologic specimens may contain infectious agents. Wear suitable protective clothing, gloves, and eye/face protection. Follow appropriate biohazard precautions when handling samples.

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

Warning

H226 Flammable Liquid and Vapour.

P233 Keep container tightly closed. **P280** Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. **P303+P361+P353** IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. **P403+P235** Store in a well-ventilated place. Keep cool. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

BD Density Reagent contains sodium azide. Do not ingest.

Warning

H302 Harmful if swallowed.

P264 Wash thoroughly after handling. **P301+P312** IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

BD EA/OG Combo Stain contains ethanol, methanol and acetic acid. Do not ingest.

Danger

H225 Highly flammable liquid and vapor. **H312+H332** Harmful in contact with skin or if inhaled. **H370** Causes damage to organs.

P264 Wash thoroughly after handling. **P280** Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. **P312** Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell. **P403+P235** Store in a well-ventilated place. Keep cool. **P501** Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

PRECAUTIONS

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

OPTIONAL ALIQUOT REMOVAL

- Sufficient volume is available in the **BD SurePath** Collection Vial to allow removal of up to 0.5 mL of homogeneous mixture of cells and fluid for ancillary testing, prior to the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test while still allowing sufficient volume for Pap testing.
- While there is no evidence that removal of an aliquot from the **BD SurePath** 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 **BD SurePath** Collection Vial.
- Aliquot removal from low-cellularity specimens may leave insufficient material in the **BD SurePath** Collection Vial for preparation of a satisfactory **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.
- Aliquot must be removed prior to processing the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Only one aliquot may be removed from the **BD SurePath** Collection Vial prior to performing the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, regardless of the volume of the aliquot.

Procedure

1. In order to ensure a homogenous mixture, the **BD SurePath** 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 **BD SurePath** 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^x and GC Q^x Amplified DNA Assays, refer to the assay Package Inserts provided by the manufacturer.

STORAGE

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

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

BD SurePath Preservative Fluid containing cytologic sample intended for use with the **BD ProbeTec** CT Q^x and GC Q^x 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^x Amplified DNA Assays.

MATERIALS REQUIRED

Refer to the Operator's Manual for the **BD PrepStain** Slide Processor for complete information concerning reagents, components and accessories. Not all the materials listed below are required for preparing **BD SurePath** Slides manually (without using the **BD PrepStain** Slide Processor).

Materials Provided

- **BD PrepStain** Slide Processor
- **BD SurePath** Collection Vial (includes **BD SurePath** Preservative Fluid)
- Cervical Sampling Devices(s) with Detachable Head(s)
- **BD** Density Reagent
- **BD** Syringing Pipettes
- **BD** Settling Chambers
- **BD** Cytology Stain Kit
- **BD SurePath** PreCoat Slides
- **BD** Centrifuge Tubes
- Slide and Tube Racks
- **BD PrepStain** Transfer Tips
- **BD** Aspirator Tips

Materials Reqired But Not Provided

- Vortex mixer
- Deionized Water (pH 7.5 to 8.5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse or Isopropanol and Reagent Grade Alcohol
- Clearing Agent, Mounting Media and Glass Coverslips

DIAGNOSTIC INTERPRETATION AND PREPARATION ADEQUACY

After **BD** Diagnostics-authorized user training on the **BD PrepStain** System and **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides, the Bethesda System cytologic diagnostic criteria currently utilized in cytology laboratories for conventional Pap smears are applicable to **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides.[1] Guidelines recommended in the Bethesda 2001 Reporting System address liquid based preparations and define how to determine adequate cellularity specifically for these preparations.

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

(1) Inadequate numbers of diagnostic cells (fewer than 5,000 squamous epithelial cells per preparation). The following are the recommended procedures for estimating the count of well-preserved squamous epithelial cells on **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides:

- For each microscope model used in screening, examine the manufacturer's microscope manual or contact the microscope manufacturer to determine the area of the field of view using the preferred ocular and the 40x objective. Alternatively, calculate the Field Area using a hemocytometer or similar microscopic slide measurement scale (Field area = πr^2 where r is the radius of the field).
- The minimum average number of cells per 40x objective field should be determined by dividing the 130 mm^2 approximate cell deposition area of the **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slide by the field area for the specific microscope. The resulting number is then divided into the 5000 cell minimum. The resulting number is the recommended minimum average adequacy number for epithelial cells in a 40x objective field of view. Record this number and keep it for routine reference use by the cytotechnologist. The Bethesda 2001 guidelines indicating the approximate number of cells per field for a 13 mm preparation.
- A minimum of ten fields should be counted horizontally or vertically along the center of the diameter of the preparation.
- As a practical means of assessing cellularity, macroscopic evaluation of the visual density of the stained preparation can be used to check the adequacy of preparation production runs. There is, however, no substitute for the primary microscopic evaluation by the cytotechnologist during the screening process.

(2) 75% or more of the cellular components are obscured by inflammation, blood, bacteria, mucus, or artifact that precludes cytologic interpretation of the slide.

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

PERFORMANCE CHARACTERISTICS: REPORT OF CLINICAL STUDIES

First Split-Sample Study

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

Following the recommendations of the FDA "Points to Consider" document for Cervical Cytology Devices[10], each conventional Pap smear was prepared first, then the residual specimen remaining on the broom-type sampling device was deposited into a **BD SurePath** Collection Vial.

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

Consistent with the method described by Shatzkin[11], this study used an independent reference pathologist at a designated referral site who reviewed all abnormal and discrepant cases, repair cases and 5% of the normal cases from all sites in a masked fashion to provide diagnostic "truth" for each case.

Patient Characteristics

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

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

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

Study Results

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

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

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

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

Results by Site

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

SP = BD SurePath
CN = Conventional

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

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

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

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

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

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

Success = ASCUS/AGUS
Error = WNL & Reactive/Reparative
Result of McNemar Test: X^2 **mc = 1.62, p = 0.2026**
Errors Conventional: 205
Errors BD SurePath: 180

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
BD PrepStain Prepared / BD SurePath Pap Test Slide	Success	140	63	203
	Error	54	86	140
		194	149	343

Success = LSIL
Error = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS
Result of McNemar Test: **X^2 mc = 0.69, p = 0.4054**
Errors Conventional: **63**
Errors BD SurePath: **54**

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
BD PrepStain Prepared / BD SurePath Pap Test Slide	Success	160	28	188
	Error	36	38	74
		196	66	262

Success = HSIL+
Error = WNL, Reactive/Reparative & ASCUS/AGUS
Result of McNemar Test: **X^2 mc = 1.00, p = 0.3173**
Errors Conventional: **28**
Errors BD SurePath: **36**

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
BD PrepStain™ Prepared / BD SurePath™ Pap Test Slide	Success	19	2	21
	Error	5	1	6
		24	3	27

Success = Cancer
Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL
Result of McNemar Test: **X^2 mc = 1.645, p = 0.1980**
Errors Conventional: **2**
Errors BD SurePath: **5**

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
BD PrepStain Prepared / BD SurePath Pap Test Slide	Success	94	33	127
	Error	67	68	135
		161	101	262

Success = (HSIL+)
Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL
Result of McNemar Test: **X^2 mc = 11.56, p = 0.0007**
Errors Conventional: **33**
Errors BD SurePath: **67**

Table 7 shows results for cases identified by the reference pathologist to be HSIL+. Error includes WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS and LSIL. Though not consistent with the original study protocol[10], a statistical comparison of methods was performed where LSIL was considered a diagnostic error against a case determined to be HSIL+ by the single independent reference pathologist. In this statistical comparison of diagnostic sensitivities, when LSIL is considered an error, as opposed to a minor discrepancy, **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides prepared by the **BD PrepStain** System would not be equivalent to the conventionally prepared Pap smear for detection of HSIL+ abnormality in the split-sample study.

MASKED RE-EVALUATION OF HSIL+ CASES

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

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	Error	
BD PrepStain Prepared / BD SurePath Pap Test Slide	Success	153	26	179
	Error	24	6	30
		177	32	209

Success = HSIL+
Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL
Result of McNemar Test: **X^2 mc = 0.02, p = 0.8875**
Errors Conventional: **26**
Errors BD SurePath: **24**

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	**Error**	
BD PrepStain Prepared BD SurePath Pap Test Slide	**Success**	32	3	35
	Error	3	0	3
		35	3	38

Success = Cancer
Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL
Result of McNemar Test: X^2 mc = 0.00, p = 1.0000
Errors Conventional: 3
Errors BD SurePath: 3

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

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

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

		Conventionally Prepared Pap Smear						
		WNL	**ASCUS**	**AGUS**	**LSIL**	**HSIL**	**CA**	**Total**
BD PrepStain Prepared BD SurePath Pap Test Slide	**WNL**	1,561	128	0	47	30	0	1,766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1,710	203	3	104	70	7	2,097

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

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

		Conventionally Prepared Slide		
		Success	**Error**	
BD PrepStain Prepared BD SurePath Pap Test Slide	**Success**	25	21	46
	Error	21	10	31
		46	31	77

Success = HSIL+
Error = WNL, Reactive/Reparative ASCUS/AGUS & LSIL
Result of McNemar Test: X^2 mc = 0.00, p = 1.0000
Errors Conventional: 21
Errors BD SurePath: 21

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

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

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

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

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

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

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

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

Table 13 First Split-Sample Study: Preparation Adequacy Results

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

Note: *Some patients had more than one subcategory.*

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

Table 14 shows results from a comparison of preparation adequacy both preparation methods. There were significantly fewer Unsatisfactory and SBLB cases with **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides as compared to the conventional slides.

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

		Conventionally Prepared Slide			
		SAT	**SBLB**	**UNSAT**	
BD PrepStain Prepared BD SurePath Pap Test Slide	**SAT**	5,868	1,693	46	7,607
	SBLB	579	772	34	1,385
	UNSAT	21	24	9	54
		6,468	2489	89	9,046

UNSAT: Result of McNemar Test: X^2 mc = 9.33, p = 0.0023

SBLB: Result of McNemar Test: X^2 mc = 546.21, p = 0.0000

Table 15 shows comparison of satisfactory and unsatisfactory preparations from the evaluations at both the trial sites and the reference site. **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides show a statistically significant reduction of unsatisfactory cases compared to conventional slides.

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

		Conventionally Prepared Slide		
		SAT	**UNSAT**	
BD PrepStain Prepared BD SurePath Pap Test Slide	**SAT**	8,807	151	8,958
	UNSAT	70	18	88
		8,877	169	9,046

Result of McNemar Test: X^2 mc = 29.69, p = 0.0000

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

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

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

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

EVALUATION OF BD SUREPATH LIQUID-BASED PAP TEST SLIDE PREPARATION USING THE BD PREPMATE™ AND THE BD SUREPATH MANUAL METHODS

BD Diagnostics (previously known as TriPath Imaging) conducted a prospective, multi-center clinical trial to evaluate two modifications to the FDA-approved procedure of preparing **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides. The modifications to the approved process for preparing **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides were as follows:

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

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

The primary objectives of the study were to:

- Evaluate the morphological and quality aspects of **BD SurePath**™ Liquid-based Pap Test slides prepared using the **BD PrepMate**™ method as compared to slides prepared according to the approved method of using the **BD PrepStain**™ System (referred to as the **BD PrepStain** method).
- Evaluate the morphological and quality aspects of **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides prepared using the **BD SurePath** manual method as compared to slides prepared according to the approved **BD PrepStain** method.

Additional objectives of the study were to:

- Determine if the amount of agreement between the approved **BD PrepStain** method and the **BD PrepMate** method was greater than would be expected by chance alone.
- Determine if the amount of agreement between the approved **BD PrepStain** method and the **BD SurePath** manual method was greater than would be expected by chance alone.
- Assess the specimen adequacy according to the **BD PrepStain** System standards for preparing **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides using the **BD PrepMate** method.
- Assess the specimen adequacy according to the **BD PrepStain** System standards for preparing **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides using the **BD SurePath** manual method.

BD PREPMATE AUTOMATED ACCESSORY

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

BD SUREPATH MANUAL METHOD

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

In the **BD PrepStain** method, centrifuged cell pellets are placed directly onto the **BD PrepStain** Slide Processor for automated processing to produce stained **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides.

In the **BD SurePath** manual method, deionized water is added to the centrifuged cell pellet followed by vortexing to resuspend and randomize the sample. The sample is transferred into a **BD** Settling Chamber mounted on a **BD SurePath** PreCoat Slide. After the sample is settled onto the slide, the sample is stained by a batch Papanicolaou staining procedure.

SLIDE ACCOUNTABILITY

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

Table 17 Slide Accountability

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

* Missing samples, duplicate patient numbers, etc.

POPULATION DEMOGRAPHICS

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

Table 18 Patient Demographics

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

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

Table 19 Current Clinical Information

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

Table 20 Clinical History

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

* Bilateral tubal ligation

** Pelvic inflammatory disease

STUDY RESULTS

The purpose of this study was to establish that **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides prepared using the **BD PrepMate** method and **BD SurePath** manual method procedures compared favorably with those prepared using the approved **BD PrepStain** method. The clinical data show that the slides prepared by the **BD PrepMate** and **BD SurePath** manual methods are comparable in morphology and quality to those prepared by the approved **BD PrepStain** method.

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

SPECIMEN MORPHOLOGY AND QUALITY

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

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

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

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

DIAGNOSTIC AGREEMENT

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

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

COMPARISON OF APPROVED BD PREPSTAIN AND BD PREPMATE METHODS

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

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

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

Table 22 Crosstabulation of Diagnoses by **BD PrepStain** and **BD PrepMate** Method.

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

COMPARISON OF APPROVED BD PREPSTAIN AND BD SUREPATH MANUAL METHODS

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

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

Table 23 Crosstabulation of Diagnoses by **BD PrepStain** method and **BD SurePath** manual method

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

SLIDE ADEQUACY

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

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

Table 24 Adequacy Results for **BD PrepMate** and **BD PrepStain** Method Slides

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

Table 25 shows the adequacy results when comparing the approved **BD PrepStain** method to the **BD SurePath** manual method.

Table 25 Adequacy Results for **BD SurePath** Manual Manual and **BD PrepStain** Method Slides

BD SurePath Manual Method Result \ BD PrepStain Method Result	SAT or SBLB	UNSAT	
SAT or SBLB	398	2	400
UNSAT	0	3	3
	398	5	403

These two comparisons demonstrate that the **BD PrepMate** method and **BD SurePath** manual method do not differ from the approved **BD PrepStain** method with respect to slide adequacy.

DIRECT-TO-VIAL STUDY

Following the initial FDA approval of the **BD PrepStain** System, BD Diagnostics (formerly known as TriPath Imaging) conducted a large, multi-center study of the **BD PrepStain** System when used as intended with direct-to-vial specimens. The previous clinical studies used a split-sample method in which the sample was first used to create a conventional Pap smear slide, and the remaining sample was placed in the **BD SurePath** Collection Vial and processed by the **BD PrepStain** System to create a **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slide. It is well established that split-sample designs underestimate the true performance of the test that is prepared from the residual cellular material[12].

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

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

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

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

Table 26 Comparison of Detection Rates by Site

HSIL+

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

LSIL+

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

ASCUS+

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

Unsatisfactory

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

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

PROCEDURE

Complete procedures for preparing **BD SurePath** Liquid-based Pap Test slides are provided in the **BD PrepStain**™ Slide Processor Operator's Manual.

BIBLIOGRAPHY

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

Technical Information: In the United States contact BD Technical Service and Support at 800-638-8663 or www.bd.com/ds.

BD PrepStain System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate** Consumables Kit (Kit de consommables)
REF 491311	**BD PrepStain** Consumables Kit (Kit de consommables)
REF 491312	**BD PrepStain** Consumables Kit (Kit de consommables) – Japon

APPLICATION

Le système **BD PrepStain** (anciennement AutoCyte PREP) est un procédé de préparation cellulaire liquide en couche mince. Le système **BD PrepStain** produit des lames pour **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (test Pap en milieu liquide) destinées à remplacer les frottis Pap gynécologiques classiques. Les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (anciennement AutoCyte PREP) sont conçues pour le dépistage et la détection du cancer du col de l'utérus, des lésions précancéreuses, des cellules atypiques et des autres catégories cytologiques définies par le document « Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses ».[1]

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

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

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

Le processus **BD SurePath** commence par un prélèvement d›échantillon gynécologique effectué par un personnel médical qualifié, à l'aide d'un dispositif de prélèvement de type balai (par ex., Rovers Cervex Brush, Rovers Medical Devices B.V., Oss, Pays-Bas) ou d'une combinaison de brosse endocervicale/spatule en plastique (par ex., Cytobrush Plus GT et spatule Pap Perfect, CooperSurgical Inc., Trumbull, CT) à tête(s) amovible(s). Il n'est plus nécessaire d'étaler les cellules recueillies par les dispositifs de prélèvement sur une lame de verre : désormais, les têtes de ces dispositifs de prélèvement peuvent être détachées du manche pour être placées dans un flacon **BD SurePath** Preservative Fluid. Le flacon est rebouché, étiqueté et envoyé au laboratoire, avec les documents nécessaires à son traitement. Les têtes des dispositifs de prélèvement ne sont jamais retirées du flacon contenant la solution de conservation où se trouve l'échantillon prélevé.

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

*Remarque : pour les tests complémentaires, l'aliquote de 0,5 mL (maximum) peut être extraite après l'étape de mélange au vortex dans le cadre du processus **BD SurePath** Liquid-Based Pap Test (Test Pap en phase liquide).

LIMITES

- Les échantillons gynécologiques destinés aux préparations réalisées avec le système **BD PrepStain**, doivent être prélevés à l'aide d'un dispositif de type balai ou d'un dispositif combiné constitué d'une brosse endocervicale/spatule en plastique à tête(s) amovible(s), conformément à la procédure de prélèvement standard indiquée par le fabricant. Les spatules en bois ne doivent pas être utilisées avec le système **BD PrepStain**. Les dispositifs combinés de brosse endocervicale/spatule en plastique non amovibles ne doivent pas être utilisés avec le système **BD PrepStain**.
- La production et l'évaluation des lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test ne peuvent être effectuées que par du personnel formé par des personnes autorisées. Les cytologistes et les pathologistes seront formés à l'évaluation morphologique sur les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. La formation inclura un examen des compétences. Les clients de laboratoire recevront des jeux de lames et de matériel d'essai à visée pédagogique. BD Diagnostics participera également à la préparation des lames destinées à la formation conçues à partir des populations patient propres à chaque client.
- Pour que le système **BD PrepStain** offre des performances optimales, il convient d'utiliser uniquement les accessoires pris en charge ou recommandés par BD Diagnostics. 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 **BD SurePath** Collection Vial (flacon de prélèvement avec liquide de conservation) est nécessaire pour le processus du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Les échantillons cytologiques peuvent contenir des agents infectieux. Porter des vêtements, des gants et des lunettes/un masque de protection appropriés. Lors de la manipulation de ces échantillons, respecter les précautions applicables aux substances présentant un risque biologique.

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

Attention

H226 Liquide et vapeurs inflammables.

P233 Maintenir le récipient fermé de manière étanche. **P280** Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. **P303+P361+P353** EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/Se doucher. **P403+P235** Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Le **BD** Density Reagent (Réactif de densité) contient de l'azoture de sodium. Ne pas ingérer.

Attention

H302 Nocif en cas d'ingestion.

P264 Se laver soigneusement après manipulation. **P301+P312** EN CAS D'INGESTION : Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

Le mélange de coloration **BD** EA/OG contient de l'éthanol, du methanol et de l'acide acétique. Ne pas ingérer.

Danger

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.**H312+H332** Nocif en cas de contact cutané ou d'inhalation. **H370** Risque avéré d'effets graves pour les organes.

P264 Se laver soigneusement après manipulation. **P280** Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. **P312** Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. **P403+P235** Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais. **P501** Éliminer le contenu/récipient conformément aux règlements locaux/régionaux/nationaux/internationaux.

PRÉCAUTIONS

- Pour le diagnostic *in vitro*.
- À usage professionnel uniquement.
- Les bonnes pratiques de laboratoire doivent être respectées et toutes les procédures d'utilisation du système **BD PrepStain** doivent être rigoureusement observées.
- Les réactifs doivent être conservés à température ambiante (15 à 30 °C) et utilisés avant leur date de péremption pour garantir des performances optimales. Le **BD SurePath** Preservative Fluid (Liquide de conservation) sans échantillon cytologique doit être stocké à température ambiante (15 à 30 °C) pendant 36 mois maximum, à compter de la date de fabrication. La durée limite de stockage du **BD 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 **BD SurePath** Preservative Fluid (Liquide de conservation) avec échantillon cytologique à utiliser avec les **BD ProbeTec** CT Q^x et GC Q^x Amplified DNA Assays (Tests à ADN amplifié) 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 en phase liquide (LBC) pour les **BD ProbeTec** Q^x Amplified DNA Assays (Tests à ADN amplifié).
- Éviter les éclaboussures ou l'émission d'aérosols. Porter des gants, des lunettes et des vêtements de protection appropriés.
- L'efficacité antimicrobienne du **BD SurePath** Preservative Fluid a été testée et validée contre les bactéries suivantes: *Escherichia coli, Pseudomonas* aeruginosa, *Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis* et *Aspergillus niger*. Les échantillons de **BD SurePath** Preservative inoculés avec 10^6 CFU/mL de chaque espèce ne présentent aucune évolution après 14 jours (28 jours dans le cas du *Mycobacterium tuberculosis*) d'incubation, dans des conditions normales. Il convient toutefois de toujours respecter les précautions universelles de manipulation des liquides biologiques.
- Le non-respect des procédures recommandées décrites dans le manuel de l'opérateur du système **BD PrepStain** peut altérer les performances.

PRÉLÈVEMENT FACULTATIF D'UNE ALIQUOTE

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

Méthode

1. Afin de garantir l'homogénéité du mélange, il convient de vortexer le **BD SurePath** Collection Vial pendant 10 à 20 secondes, et de prélever l'aliquote de 0,5 mL dans la minute suivant le mélange au vortex.
2. Pour prélever 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 **BD SurePath** Collection Vial ou de l'aliquote. Le prélèvement de l'aliquote doit être réalisé 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 du prélèvement 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^x et GC Q^x Amplified DNA Assays, se reporter aux notices livrées par le fabricant du test.

CONSERVATION

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

La durée limite de conservation du **BD SurePath** Preservative Fluid 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 **BD SurePath** Preservative Fluid avec échantillons cytologiques à utiliser avec les tests à ADN amplifié **BD ProbeTec** CT Q^x et GC Q^x 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^x.

MATÉRIAUX REQUIS

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

Matériaux fournis

- **BD PrepStain** Slide Processor (Système de traitement des lames)
- **BD SurePath** Collection Vial (Flacon de prélèvement, avec **BD SurePath** Preservative Fluid, liquide de conservation)
- Dispositif(s) de prélèvement d'échantillons cervicaux avec tête(s) amovible(s)
- **BD** Density Reagent (Réactif de densité)
- **BD** Syringing Pipettes (Pipettes de prélèvement)
- **BD** Settling Chambers (Chambres de décantation)
- **BD** Cytology Stain Kit (Kit de coloration cytologique)
- **BD SurePath** PreCoat Slides (Lames)
- **BD** Centrifuge Tubes (Tubes de centrifugation)
- Portoirs de tubes et de lames
- **BD** PrepStain Transfer Tips (Embouts de transfert)
- **BD** Aspirator Tips (Embouts d'aspiration)

Matériaux requis mais non fournis

- Agitateur vortex
- Eau désionisée (pH 7,5 à 8,5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse (Rinçage de mélange d'alcool) ou isopropanol et alcool de type réactif
- Agent de nettoyage, milieu de montage et lamelles de verre

INTERPRÉTATION DU DIAGNOSTIC ET ADÉQUATION DE LA PRÉPARATION

Après la formation agréée BD Diagnostics de l'utilisateur sur le système **BD PrepStain** et les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, les critères de diagnostic cytologique définis par le système Bethesda actuellement utilisés dans les laboratoires de cytologie pour les frottis Pap classiques sont applicables aux lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.[1] Les recommandations du Bethesda 2001 Reporting System concernent les préparations à base liquide et indiquent comment déterminer une cellularité adéquate spécialement pour ces préparations.

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

(1) Nombre insuffisant de cellules de diagnostic (inférieur à 5 000 cellules épithéliales squameuses par préparation). Les procédures suivantes sont recommandées pour la numération des cellules épithéliales squameuses bien préservées sur les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test :

- pour chaque modèle de microscope utilisé lors du dépistage, respecter le manuel du fabricant ou contacter le fabricant du microscope afin de déterminer la surface du champ de vision obtenu à l'aide des oculaires sélectionnés et d'un objectif de 40x. Il est également possible de calculer la surface du champ à l'aide d'un hémocytomètre ou d'une échelle similaire de mesure des lames pour microscope (surface du champ = πr^2 où r correspond au rayon du champ).
- le nombre moyen minimum de cellules sur un champ visualisé avec un objectif de 40x doit être déterminé en divisant la surface de dépôt des cellules d'environ 130 mm^2 sur la lame du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test par la surface du champ spécifique au microscope. Le nombre obtenu est ensuite divisé par le minimum de 5 000 cellules. Ce nombre correspond au nombre adéquat moyen minimum recommandé pour les cellules épithéliales, avec un champ de vision obtenu avec un objectif 40x. Enregistrer ce nombre et le conserver pour le fournir au cytologiste à titre de référence. Les directives Bethesda 2001 indiquent le nombre approximatif de cellules par champ pour une préparation de 13 mm.
- Un minimum de dix champs doit être décompté horizontalement ou verticalement le long du centre du diamètre de la préparation.

- L'évaluation macroscopique de la densité visuelle de la préparation colorée peut être utilisée, comme moyen d'accès pratique à la cellularité, pour vérifier l'adéquation des séquences de production de la préparation. Cependant, rien ne remplace l'évaluation microscopique primaire, réalisée par un cytologiste au cours du processus de dépistage.

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES : RAPPORT D'ÉTUDES CLINIQUES

Première étude en échantillon fractionné

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

Conformément aux recommandations de la FDA dans le document « Points to Consider » pour les dispositifs de cytologie cervicale[10], chaque frottis Pap classique a été préparé en premier. Le résidu d'échantillon disponible sur le dispositif de prélèvement de type balai a ensuite été déposé dans un flacon **BD SurePath** Collection Vial.

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

En accord avec la méthode décrite par Shatzkin[11], cette étude a fait appel à un pathologiste de référence indépendant, travaillant sur un site de référence désigné. Ce pathologiste a revu, en aveugle, tous les cas anormaux et discordants, ainsi que les cas avec réparation cellulaire et 5 % des cas normaux provenant de tous les sites, afin d'établir une « vérité » diagnostique pour chaque cas.

Caractéristiques des patientes

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

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

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

Résultats de l'étude

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

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

Le tableau 1 établit une comparaison directe des résultats de tous les sites entre les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test et les lames classiques pour les catégories de diagnostic suivantes : WNL (dans les limites de la normalité), ASCUS/AGUS (cellules malpighiennes atypiques de signification indéterminée/anomalie des cellules glandulaires de signification indéterminée), LSIL (lésion intra-épithéliale de bas grade), HSIL (lésion intra-épithéliale de haut grade) et CA (cancer).

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

Résultats par site

N° du site	Type de lame	WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
1	SP	873	56	2	42	5	0	978
	CN	881	46	2	29	20	0	978
2	SP	1 514	47	4	81	24	0	1 670
	CN	1 560	33	6	40	31	0	1 670
3	SP	668	15	1	13	7	0	704
	CN	673	11	0	13	6	1	704
4	SP	1 302	60	2	19	5	0	1 388
	CN	1 326	37	2	19	4	0	1 388
5	SP	465	25	1	5	1	0	497
	CN	444	45	1	4	3	0	497
6	SP	1 272	179	6	83	35	1	1 576
	CN	1 258	209	9	68	30	2	1 576
7	SP	438	66	17	13	14	23	571
	CN	417	93	19	4	22	16	571
8	SP	1 227	61	3	86	44	2	1 423
	CN	1 209	57	0	94	61	2	1 423
Total	SP	7 759	509	36	342	135	26	8 807
	CN	7 768	531	39	271	177	21	8 807

SP = **BD SurePath**
CN = Classique

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

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

Frottis Pap préparés de façon classique

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Système BD PrepStain utilisé pour la préparation des lames BD SurePath Pap Test	**WNL**	7 290	361	20	63	24	1	7 759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7 768	531	39	271	177	21	8 807

Aucun résultat obtenu par le pathologiste de référence indépendant n'est indiqué dans le tableau 1 ou le tableau 2.

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	113	205	318
	Erreur	180	229	409
		293	434	727

Réussite = ASCUS/AGUS
Erreur = WNL et modification réactionnelle/réparatrice
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 1,62 ; p = 0,2026
Erreurs sur les lames classiques : 205
Erreurs sur les lames BD SurePath : 180

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	140	63	203
	Erreur	54	86	140
		194	149	343

Réussite = LSIL
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice et ASCUS/AGUS
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 0,69 ; p = 0,4054
Erreurs sur les lames classiques : 63
Erreurs sur les lames BD SurePath : 54

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	160	28	188
	Erreur	36	38	74
		196	66	262

Réussite = HSIL+
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice et ASCUS/AGUS
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 1,00 ; p = 0,3173
Erreurs sur les lames classiques : 28
Erreurs sur les lames BD SurePath : 36

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	19	2	21
	Erreur	5	1	6
		24	3	27

Réussite = Cancer
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice, ASCUS/AGUS et LSIL
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 1,645 ; p = 0,1980
Erreurs sur les lames classiques : 2
Erreurs sur les lames BD SurePath : 5

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	94	33	127
	Erreur	67	68	135
		161	101	262

Réussite = (HSIL+)
Erreur = WNL, modifications réactionnelles/réparatrices, ASCUS/AGUS et LSIL
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 11,56 ; p = 0,0007
Erreurs sur les lames classiques : 33
Erreurs sur les lames BD SurePath : 67

Le tableau 7 indique les résultats pour les cas identifiés par le pathologiste de référence comme appartenant à la catégorie HSIL+. Les erreurs incluent la catégorie WNL, les modifications réactionnelles/réparatrices et les catégories ASCUS/AGUS et LSIL. Bien qu'elle ne soit pas cohérente avec le protocole d'étude initial[10], une comparaison statistique des méthodes a été réalisée lorsque la catégorie LSIL était considérée comme une erreur diagnostique par rapport à un cas désigné par le pathologiste de référence indépendant comme appartenant à la catégorie HSIL+. Dans le cadre de cette comparaison statistique des sensibilités diagnostiques, lorsque LSIL était considérée comme une erreur, et non comme une divergence mineure, les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test préparées par le système **BD PrepStain** n'étaient pas équivalentes au frottis Pap préparé de façon classique pour la détection des anomalies de type HSIL+ dans le cadre de l'étude en échantillon fractionné.

RÉÉVALUATION EN AVEUGLE DES CAS DE TYPE HSIL+

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

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	153	26	179
	Erreur	24	6	30
		177	32	209

Réussite = HSIL+
Erreur = WNL, modifications réactionnelles/réparatrices, ASCUS/AGUS et LSIL
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 0,02 ; p = 0,8875
Erreurs sur les lames classiques : 26
Erreurs sur les lames BD SurePath : 24

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	32	3	35
	Erreur	3	0	3
		35	3	38

Réussite = Cancer
Erreur = WNL, modification réactionnelle/réparatrice, ASCUS/AGUS et LSIL
Résultat du test de McNemar : X^2 mc = 0,00 ; p = 1,0000
Erreurs sur les lames classiques : 3
Erreurs sur les lames BD SurePath : 3

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

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

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

Frottis Pap préparés de façon classique

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**WNL**	1 561	128	0	47	30	0	1 766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1 710	203	3	104	70	7	2 097

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

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

Lame à préparation classique

		Réussite	Erreur	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	**Réussite**	25	21	46
	Erreur	21	10	31
		46	31	77

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

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

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

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

Diagnostic descriptif (Nb de patients : 8 807)	**Système BD PrepStain utilisé pour la préparation des lames BD SurePath Pap Test**		**Lame à préparation classique**	
	N	%	N	%
Modifications cellulaires bénignes * Infection :				
Espèce *Candida*	440	5,0	445	5,1
Trichomonas vaginalis	118	1,3	202	2,3
Herpès	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Espèce *Actinomyces*	6	0,1	2	<0,1
Bactérie (autre)	52	0,6	191	2,2
** Modifications réparatrices réactives	424	4,8	319	3,6

* Les observations des agents infectieux ont été rapportées pour la catégorie Infection ci-dessus. Chaque cas peut présenter plusieurs catégories d'organismes.

** Les modifications réactives réparatrices incluent les modifications réactives associées à une inflammation, à une vaginite atrophique, à une irradiation et à l'utilisation d'un stérilet, ainsi que les réparations typiques avec cellules squameuses, cellules squameuses métaplasiques ou cellules épithéliales prismatiques.

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

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

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

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

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

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

Le tableau 14 indique les résultats de la comparaison de l'adéquation des préparations selon les deux méthodes. Les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test présentaient considérablement moins de cas insatisfaisants et SBLB que les lames classiques.

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

		Lame à préparation classique			
		SAT	SBLB	INSAT	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	SAT	5 868	1 693	46	7 607
	SBLB	579	772	34	1 385
	INSAT	21	24	9	54
		6 468	2489	89	9 046

INSAT : Résultat du test de McNemar: X^2 mc = 9,33 ; p = 0,0023
SBLB : Résultat du test de McNemar: X^2 mc = 546,21 ; p = 0,0000

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

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

		Lame à préparation classique		
		SAT	INSAT	
Lame BD SurePath Pap Test préparée à l'aide du Système BD PrepStain	SAT	8 807	151	8 958
	INSAT	70	18	88
		8 877	169	9 046

Résultat du test de McNemar: X^2 mc = 29,69 ; p = 0,0000

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

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

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

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

ÉVALUATION DE LA PRÉPARATION DES LAMES POUR BD SUREPATH LIQUID-BASED PAP TEST À L'AIDE DE LA MÉTHODE BD PREPMATE ET DE LA MÉTHODE MANUELLE BD SUREPATH

BD Diagnostics (anciennement TriPath Imaging) a mené une étude clinique prospective multicentrique visant à évaluer deux modifications apportées à la procédure de préparation des lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test homologuée par la FDA. Ces modifications sont les suivantes :

- ajout de l'accessoire **BD PrepMate** Automated Accessory (méthode **BD PrepMate**) qui automatise les étapes manuelles initiales du procédé de laboratoire **BD PrepStain**. la méthode **BD PrepMate** mélange et retire automatiquement l'échantillon présent dans les **BD SurePath** Collection Vials (flacons de liquide de conservation) et étale l'échantillon sur le **BD** Density Reagent (réactif de densité) dans un tube à essai ;
- ajout de la méthode manuelle **BD SurePath** qui n'utilise plus le **BD PrepStain** Slide Processor (système de traitement des lames) pour la suspension des cellules et la coloration des lames, mais étale manuellement la suspension cellulaire sur la lame, qui est alors colorée par un technicien de laboratoire.

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

Les principaux objectifs de cette étude étaient :

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

Les autres objectifs de cette étude étaient :

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

BD PREPMATE AUTOMATED ACCESSORY

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

MÉTHODE MANUELLE BD SUREPATH

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

Avec la méthode **BD PrepStain**, les culots cellulaires centrifugés sont placés directement sur l'instrument **BD PrepStain** Slide Processor afin d'y être traités automatiquement pour produire des lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test colorées.

Avec la méthode manuelle **BD SurePath**, de l'eau désionisée est ajoutée au culot cellulaire centrifugé. Cette opération est suivie d'un mélange au vortex permettant de remettre en suspension et de randomiser l'échantillon. L'échantillon est transféré dans une **BD** Settling Chamber montée sur une **BD SurePath** PreCoat Slide. Une fois l'échantillon déposé sur la lame, il est coloré suivant la procédure de coloration en lot de Papanicolaou.

DÉCOMPTE DES LAMES

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

Tableau 17 Décompte des lames

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

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

DONNÉES DÉMOGRAPHIQUES

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

Tableau 18 Données démographiques

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

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

Tableau 19 Informations cliniques actuelles

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

Tableau 20 Antécédents cliniques

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

* Ligature bilatérale des trompes

** Infection génitale haute

RÉSULTATS DE L'ÉTUDE

Cette étude a pour objectif d'établir que les lames du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test préparées selon la méthode **BD PrepMate** et les procédures de la méthode manuelle **BD SurePath** offrent une comparaison favorable par rapport à celles préparées selon la méthode **BD PrepStain** homologuée. Les données cliniques montrent que les lames préparées selon la méthode **BD PrepMate** et la méthode manuelle **BD SurePath** sont comparables sur les plans morphologiques et qualitatifs à celles préparées selon la méthode homologuée **BD PrepStain**.

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

MORPHOLOGIE ET QUALITÉ DES ÉCHANTILLONS

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

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

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

Les taux d'acceptation de la méthode **BD PrepMate** et de la méthode manuelle **BD SurePath** sont presque toujours supérieurs ou égaux à ceux de la méthode **BD PrepStain**. En outre, les intervalles de confiance de 95 % de la méthode **BD PrepMate** et de la méthode manuelle **BD SurePath** dépassent nettement ceux de la méthode homologuée **BD PrepStain**, pour chaque critère. Ceci signifie que les lames préparées selon la méthode **BD PrepMate** et la méthode manuelle **BD SurePath** présentent des aspects morphologiques et qualitatifs comparables à ceux des lames préparées selon la méthode homologuée **BD PrepStain**. Par conséquent, la qualité de la préparation est la même pour la méthode homologuée que pour les deux méthodes testées.

CONCORDANCE DES DIAGNOSTICS

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

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

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

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

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

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

Tableau 22 Recoupement des diagnostics établis par la méthode **BD PrepStain** et par la méthode **BD PrepMate**.

		Diagnostic établi selon la méthode BD PrepStain									
		Insat.	WNL	BCC-RR	Atypique	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnostic établi selon la méthode BD PrepMate	Insat.	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atypique	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARAISON DE LA MÉTHODE HOMOLOGUÉE BD PREPSTAIN ET LA MÉTHODE MANUELLE BD SUREPATH

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

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

Tableau 23 Recoupement des diagnostics établis par la méthode **BD PrepStain** et par la méthode manuelle **BD SurePath**

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

ADÉQUATION DES LAMES

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

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

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

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

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

Tableau 25 Résultats d'adéquation pour les lames de la méthode manuelle **BD SurePath** et celles de la méthode **BD PrepStain**

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

Ces deux comparaisons démontrent que la méthode **BD PrepMate** et la méthode manuelle **BD SurePath** ne diffèrent pas de la méthode homologuée **BD PrepStain** en matière d'adéquation des lames.

ÉTUDE AVEC DILUTION IMMÉDIATE

Suite à l'agrément initial accordé par la FDA au système **BD PrepStain**, BD Diagnostics (anciennement TriPath Imaging) a mené une vaste étude multicentrique sur le système **BD PrepStain** lorsqu'il est utilisé comme prévu avec les échantillons avec dilution immédiate. Les précédentes études cliniques utilisaient une méthode en échantillon fractionné suivant laquelle l'échantillon était d'abord utilisé pour créer une lame de frottis Pap classique, et le reste de l'échantillon était placé dans le **BD SurePath** Collection Vial, puis traité à l'aide du système **BD PrepStain** afin de créer une lame du **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Il est démontré que les études en échantillon fractionné sous-estiment les performances réelles des analyses préparées à partir de matériaux cellulaires résiduels.[12]

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

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

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

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

Tableau 26 Comparaison des taux de détection par site

HSIL+

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

LSIL+

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

ASCUS+

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

Insatisfaisante

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

Remarque : *des variations d'efficacité d'un site à l'autre sont attendues. Chaque laboratoire doit soigneusement surveiller la qualité de son travail.*

MÉTHODE

Les procédés complets de préparation des lames **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (Test en phase liquide) figurent dans le manuel d'utilisation du **BD PrepStain** Slide Processor (Système de traitement des lames).

REFERENCES : voir la rubrique « References » du texte anglais.

Service et assistance technique de BD Diagnostics : contacter votre représentant local de BD ou consulter le site www.bd.com/ds.

BD PrepStain System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate** Consumables Kit (Verbrauchsmaterial-Kit)
REF 491311	**BD PrepStain** Consumables Kit (Verbrauchsmaterial-Kit)
REF 491312	**BD PrepStain** Consumables Kit (Verbrauchsmaterial-Kit) – Japan

VERWENDUNGSZWECK

Das **BD PrepStain** System (früher AutoCyte PREP System) ist ein Dünnschicht-Zellpräparationsverfahren auf Flüssigkeitsbasis. Mit dem **BD PrepStain** System werden **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests (Pap-Test auf Flüssigkeitsbasis) erstellt, die die herkömmlichen gynäkologischen Pap-Abstriche ersetzen. Die **BD SurePath**-Objektträger (früher AutoCyte PREP Slides) werden zum Screening und Nachweisen von Zervixkarzinomen, präkanzerösen Läsionen, atypischen Zellen und allen anderen zytologischen Kategorien verwendet, die durch „The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses“[1] definiert werden.

BD 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^x und *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q^x getestet werden. Anweisungen zur Verwendung von **BD 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 **BD PrepStain** System wandelt eine flüssige Suspension einer Zervikalzellprobe unter Erhaltung der diagnostischen Zellgruppen in eine diskret gefärbte, homogene dünne Schicht von Zellen um.[2-9] Dieses Verfahren umfasst Zellkonservierung, Randomisierung, Anreicherung des diagnostischen Materials, Pipettieren, Sedimentation, Färben und das Auflegen eines Deckglases zur Erstellung eines **BD SurePath**-Objektträgers für Liquid-based Pap-Tests, wie er in routinemäßigem Zytologie-Screening und der Kategorisierung entsprechend dem Bethesda-System verwendet wird.[1] Der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests zeigt eine gut konservierte Population gefärbter Zellen, die in einem Kreis von 13 mm Durchmesser angeordnet sind. Artefakte durch Lufttrocknung, trübendes und überlappendes Zellmaterial und Gewebereste werden größtenteils eliminiert. Die Anzahl der weißen Blutkörperchen wird bedeutend verringert, was die Erkennung von Epithelzellen für die Diagnose relevanten Zellen und infektiösen Organismen vereinfacht.

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

Im Labor wird die konservierte Probe durch Vortexen vermischt* und in ein Röhrchen mit **BD** Density Reagent (Dichtereagenz) gegeben. Durch Anreicherung mittels Zentrifugalsedimentierung mit **BD** Density Reagent (Dichtereagenz) werden nicht-diagnostische Gewebereste und überschüssige Entzündungszellen teilweise aus der Probe entfernt. Nach dem Zentrifugieren werden die Zellpellets resuspendiert, vermischt und in eine **BD** Settling Chamber (Absetzkammer) übertragen, die auf einem **BD SurePath** PreCoat Slide (Beschichteter Objektträger) angebracht ist. Die Zellen werden durch Schwerkraft sedimentiert und anschließend mit einem abgeänderten Papanicolaou-Färbeverfahren gefärbt. Der Objektträger wird mit Xylol oder einem adäquaten Ersatz gereinigt und mit einem Deckglas versehen. Die innerhalb eines Kreises von 13 mm Durchmesser angeordneten Zellen werden von ausgebildeten Zytotechnikern und Pathologen, die Zugang zu anderen wichtigen Hintergrundinformationen der Patientin haben, unter dem Mikroskop untersucht.

* Hinweis: Das Aliquot mit bis zu 0,5 mL kann nach dem Vortexen für Zusatztests im **BD SurePath** Liquid-based Pap-Testverfahren (Pap-Testkit auf Flüssigkeitsbasis) entnommen werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Gynäkologische Proben für Präparate mit dem **BD PrepStain** System sollten mit einer Abstrichbürste oder einer Kombination aus Abstrichbürste/Kunststoffspatel mit abnehmbarem Kopf/Köpfen entsprechend dem vom Hersteller vorgegebenen Standardverfahren zur Probenentnahme entnommen werden. Holzspatel dürfen in Verbindung mit dem **BD PrepStain** System nicht verwendet werden. Kombinationen aus Abstrichbürste/Kunststoffspatel, deren Köpfe nicht abnehmbar sind, sind ebenfalls nicht mit dem **BD PrepStain** System zu verwenden.
- Voraussetzung für die Herstellung und Auswertung der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests ist eine entsprechende Ausbildung durch autorisiertes Personal. Zytotechniker und Pathologen werden speziell für die Begutachtung der Morphologie auf den **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests ausgebildet. Die Ausbildung wird mit einem Leistungstest abgeschlossen. Den labortätigen Kunden werden Schulungsobjektträger und Testaufgaben zur Verfügung gestellt. BD Diagnostics ist den Kunden auch bei der Präparation von Schulungsobjektträgern behilflich, die aus deren eigener Patientenpopulation stammen.
- Damit das **BD PrepStain** System einwandfrei funktioniert, dürfen nur Verbrauchsmaterialien verwendet werden, die von BD Diagnostics unterstützt oder für die Verwendung mit dem **BD PrepStain** System empfohlen werden. Gebrauchtes Verbrauchsmaterial und Produkt sind vorschriftsgemäß zu entsorgen.
- Alle Verbrauchsmaterialien sind für den Einmalgebrauch gedacht und dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Ein Volumen von 8,0 ± 0,5 mL der im **BD SurePath** Collection Vial (Versandgefäß) enthaltenen Probe ist für die Objektträger des **BD SurePath** Liquid-based Pap-Tests (Pap-Test auf Flüssigkeitsbasis) erforderlich.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Zytologische Proben können infektiöses Material enthalten. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen. Bei der Handhabung der Proben die entsprechenden Sicherheitshinweise für biologische Risiken befolgen.

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

Achtung

H226 Flüssigkeit und Dampf entzündbar.

P233 Behälter dicht verschlossen halten. **P280** Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. **P303+P361+P353** BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. **P403+P235** Kühl an einem gut belüfteten Ort aufgewahren. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

BD Density Reagent enthält Natriumazid. Nicht einnehmen.

Achtung

H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.

P264 Nach Gebrauch gründlich waschen. **P301+P312** BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

BD EA/OG Combo Stain (Kombo-Färbemittel) enthält Ethanol, Methanol und Essigsäure. Nicht einnehmen.

Gefahr

H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. **H312+H332** Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt oder Einatmen. **H370** Schädigt die Organe.

P264 Nach Gebrauch gründlich waschen. **P280** Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. **P312** Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. **P403+P235** Kühl an einem gut belüfteten Ort aufgewahren. **P501** Inhalt/Behälter gemäß den örtlichen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen.

SICHERHEITSHINWEISE

- *In-vitro*-Diagnostikum.
- Nur zur professionellen Verwendung.

- Es müssen gute Laborpraktiken eingehalten und alle Verfahren für die Anwendung des **BD PrepStain** Systems strikt befolgt werden.
- Damit die Reagenzien einwandfrei funktionieren, sollten sie bei Zimmertemperatur (15 °C – 30 °C) gelagert und vor dem Verfallsdatum verwendet werden. **BD SurePath** Preservative Fluid (Konservierungslösung) ohne zytologische Proben kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Zimmertemperatur (15 °C bis 30 °C) gelagert werden. **BD SurePath** Preservative Fluid mit zytologischen Proben ist im Kühlschrank (2 – 10 °C) 6 Monate oder bei Zimmertemperatur (15 – 30 °C) 4 Wochen lagerfähig. **BD SurePath** Preservative Fluid (Konservierungslösung) mit zytologischen Proben zur Verwendung mit den amplifizierten **BD ProbeTec** CT Q^x- und GC Q^x-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** Q^x-DNA-Assays übertragen wird.
- Spritzer und Aerosolbildung sind zu vermeiden. Es ist ein entsprechender Hand-, Augen- und Kleiderschutz zu tragen.
- **BD SurePath** Preservative Fluid (Konservierungslösung) ist bakterientötend und wurde gegen die folgenden Erreger erfolgreich getestet: *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Mycobacterium tuberculosis* und *Aspergillus niger*. **BD SurePath**-Konservierungsproben, die mit 10^6 CFU/mL jeder Spezies inokuliert wurden, zeigten nach 14 Tagen Inkubation (28 Tage für *Mycobacterium tuberculosis*) unter Standardbedingungen kein Wachstum. Die allgemeinen Sicherheitshinweise für einen sicheren Umgang mit biologischen Flüssigkeiten sind dennoch jederzeit einzuhalten.
- Ein Nichtbeachten der empfohlenen Verfahren, die im Benutzerhandbuch des **BD PrepStain** Systems beschrieben sind, kann die Funktion beeinträchtigen.

OPTIONALE ALIQUOT-ENTNAHME

- Das Volumen des **BD SurePath** Collection Vial reicht aus, um bis zu 0,5 mL einer homogenen Zell-/Flüssigkeitsmischung für Zusatztests entnehmen zu können, bevor der **BD SurePath** Pap-Test auf Flüssigkeitsbasis 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 **BD SurePath** Collection Vial 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 **BD SurePath** Collection Vial entnommen werden.
- Die Aliquot-Entnahme von Proben mit niedriger Zellularität kann dazu führen, dass nur noch unzureichendes Material im **BD SurePath** Collection Vial vorhanden und somit die Präparation eines zufriedenstellenden **BD SurePath** Liquid-based Pap-Tests nicht möglich ist.
- Das Aliquot muss vor Durchführung des **BD SurePath** Pap-Tests auf Flüssigkeitsbasis entnommen werden. Vor Durchführung des **BD SurePath** Pap-Tests auf Flüssigkeitsbasis darf unabhängig vom Volumen des Aliquots nur ein Aliquot aus dem **BD SurePath** Collection Vial entnommen werden.

Verfahren

1. Um eine homogene Mischung sicherzustellen, muss das **BD SurePath** Collection Vial 10 – 20 Sekunden lang gevortext, und das Aliquot von 0,5 mL muss innerhalb von einer Minute nach dem Vortexen entnommen werden.
2. 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 **BD SurePath** Collection Vial oder das Aliquot gelangen. Die Aliquot-Entnahme muss an einem angemessenen Ort außerhalb von Bereichen, in denen die Amplifikation durchgeführt wird, stattfinden.
3. 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.
4. Anweisungen zum Bearbeiten des Aliquots mithilfe der amplifizierten **BD ProbeTec** CT Q^x- und GC Q^x-DNA-Assays sind in den vom Hersteller bereitgestellten Packungsbeilagen der Assays enthalten.

LAGERUNG

BD SurePath Preservative Fluid (Konservierungslösung) ohne zytologische Proben kann bis zu 36 Monate nach dem Herstellungsdatum bei Umgebungstemperatur (15 – 30 °C) gelagert werden.

BD SurePath Preservative Fluid (Konservierungslösung) mit zytologischen Proben ist im Kühlschrank (2 – 10 °C) 6 Monate oder bei Umgebungstemperatur (15 – 30 °C) 4 Wochen lagerfähig.

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

ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Komplette Angaben über die Reagenzien, Bestandteile und Zubehörteile stehen im Benutzerhandbuch des **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor). Nicht alle der unten aufgeführten Materialien werden für die manuelle Präparation (ohne **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor)) der **BD SurePath**-Objektträger benötigt.

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor)
- **BD SurePath** Collection Vial (Versandgefäß (einschließlich **BD SurePath** Konservierungslösung)
- Abstrichgerät(e) mit abnehmbarem Kopf
- **BD** Density Reagent (Dichtereagenz)
- **BD** Syringing Pipettes (Spritzpipetten)
- **BD** Settling Chambers (Absetzkammern)
- **BD** Cytology Stain Kit (Zytologisches Färbe-Kit)
- **BD SurePath** PreCoat Slides (Beschichtete Objektträger)
- **BD** Centrifuge Tubes (Zentrifugenröhrchen)
- Objektträger- und Röhrchenhalter
- **BD PrepStain** Transfer Tips (Transferspitzen)
- **BD** Aspirator Tips (Absaugspitzen)

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

- Vortex-Mixer
- Entionisiertes Wasser (pH 7,5 bis 8,5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse (Spüllösung auf Alkoholbasis) oder Isopropanol und Reaganzalkohol
- Klärmittel, Eindeckmedien und Deckgläser

DIAGNOSTISCHE INTERPRETATION UND ADÄQUATHEIT DER PRÄPARATION

Nach der durch BD Diagnostics autorisierten Benutzerausbildung für das **BD PrepStain** System und die **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests werden auf **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests die zytologischen diagnostischen Kriterien des Bethesda-Systems angewendet, wie sie gegenwärtig in zytologischen Labors für herkömmliche Pap-Abstriche verwendet werden.[1] Das Bethesda 2001 Reporting System empfiehlt Richtlinien für Präparate auf Flüssigkeitsbasis und definiert die Bestimmung adäquater Zellularität in Bezug auf diese Präparate.

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

(1) Eine unzureichende Anzahl der für die Diagnose benötigten Zellen (weniger als ca. 5.000 squamöse Epithelzellen pro Präparat). Nachstehend folgen empfohlene Verfahren zum Schätzen der Anzahl konservierter squamöser Epithelzellen auf den **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests:

- Für jedes beim Screening benutzte Mikroskop das Handbuch des Herstellers konsultieren oder den Hersteller des Mikroskops kontaktieren, um die Größe des Sichtfeldes mit dem bevorzugten Okular und dem 40-fachen Objektiv zu bestimmen. Die Größe des Sichtfeldes kann auch mit einem Hämozytometer oder einer ähnlichen mikroskopischen Messskala für Objektträger berechnet werden (Größe des Sichtfeldes = πr^2, wobei r für den Radius des Sichtfeldes steht).
- Die minimale durchschnittliche Anzahl Zellen pro 40-fachem Objektiv sollte durch Dividieren des 130 mm^2 großen durchschnittlichen Zellablagerungsbereichs auf dem **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests durch den Bereich des Sichtfeldes für das spezifische Mikroskop bestimmt werden. Das Ergebnis wird dann in das 5.000-Zellen-Minimum aufgeteilt. Die daraus resultierende Anzahl ist die empfohlene minimale adäquate Durchschnittsanzahl von Epithelzellen im Sichtfeld eines 40-fachen Objektivs. Diese Anzahl notieren und als Referenz für den Zytologen aufbewahren. Die Bethesda 2001-Richtlinien, die die ungefähre Anzahl der Zellen pro Sichtfeld für ein 13-mm-Präparat angeben.

- Horizontal oder vertikal entlang des Zentrums des Durchmessers eines Präparats sollten mindestens 10 Felder gezählt werden.
- Als praktisches Mittel zur Bestimmung des Zellreichtums kann eine makroskopische Evaluierung der visuellen Dichte des gefärbten Präparats für die Überprüfungen der Adäquatheit der Präparate verwendet werden. Es gibt jedoch keinen Ersatz für die grundlegende mikroskopische Evaluierung durch den Zytologen während des Screenings.

(2) 75 % oder mehr der Zellbestandteile sind durch Entzündungen, Blut, Bakterien, Schleim oder Artefakte verunreinigt, was eine zytologische Interpretation des Objektträgers ausschließt.

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

LEISTUNGSMERKMALE: BERICHT ÜBER KLINISCHE STUDIEN

Erste Split-Sample-Studie

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

Gemäß dem Dokument „Points to Consider" der FDA (US-Bundesbehörde zur Überwachung von Nahrungs- und Arzneimitteln) zu zervikalzytologischen Geräten[10] wurde zuerst jeweils ein herkömmlicher Pap-Abstrich hergestellt, dann wurde das auf der Abstrichbürste verbliebene Untersuchungsmaterial in ein **BD SurePath** Collection Vial (Versandgefäß mit Konservierungslösung) gegeben.

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

In Übereinstimmung mit der von Shatzkin[11] beschriebenen Methode wurde auch bei dieser Studie mit einem unabhängigen Referenzpathologen in einer bestimmten Zuweisungsstelle gearbeitet, der alle abnormalen und diskrepanten Fälle, Ausbesserungsfälle und 5 % der Normalfälle von allen Testzentren auf maskierte Weise überprüfte, um für jeden Fall die diagnostische „Wahrheit" zu ermitteln.

Patientendaten

Die Frauen, die an der Studie teilnahmen, waren zwischen 16 und 87 Jahre alt und 772 davon waren post-menopausal. Von den 8.807 Patientinnen der Studie hatten 1.059 eine Krankengeschichte mit abnormalen Pap-Abstrichen. Die gesamte untersuchte Patientenpopulation bestand aus den folgenden ethnischen Gruppen: Kaukasisch (44 %), schwarz (30 %), asiatisch (12 %), lateinamerikanisch (10 %), amerikanische Ureinwohner (3 %) und andere (1 %).

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

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

Studienergebnisse

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

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

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

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

Ergebnisse nach Zentren geordnet

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

SP = **BD SurePath**
CN = Conventional (Herkömmlich)

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

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

Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Insgesamt
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath	**WNL**	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Insgesamt	7.768	531	39	271	177	21	8.807

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	**Fehler**	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	113	205	318
	Fehler	180	229	409
		293	434	727

Erfolg = ASCUS/AGUS
Fehler = WNL & Reaktiv/Reparativ
Ergebnis des McNemar-Tests: **X^2 mc = 1,62, p = 0,2026**
Fehler bei der herkömmlichen Methode: **205**
Fehler bei BD SurePath: **180**

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	**Fehler**	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	140	63	203
	Fehler	54	86	140
		194	149	343

Erfolg = LSIL
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ & ASCUS/AGUS
Ergebnis des McNemar-Tests: **X^2 mc = 0,69, p = 0,4054**
Fehler bei der herkömmlichen Methode: **63**
Fehler bei BD SurePath: **54**

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	**Fehler**	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	160	28	188
	Fehler	36	38	74
		196	66	262

Erfolg = HSIL+
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ & ASCUS/AGUS
Ergebnis des McNemar-Tests: **X^2 mc = 1,00, p = 0,3173**
Fehler bei der herkömmlichen Methode: **28**
Fehler bei BD SurePath: **36**

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

Tabelle 6 Erste Split-Sample-Studie: Diskordante Fehleranalyse für Krebsfälle (HSIL wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet, LSIL wurde als Fehler betrachtet)

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	**Fehler**	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	19	2	21
	Fehler	5	1	6
		24	3	27

Erfolg = Krebs
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL
Ergebnis des McNemar-Tests: **X^2 mc = 1,645, p = 0,1980**
Fehler bei der herkömmlichen Methode: **2**
Fehler bei BD SurePath: **5**

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		Erfolg	**Fehler**	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	94	33	127
	Fehler	67	68	135
		161	101	262

Erfolg = (HSIL+)
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL
Ergebnis des McNemar-Tests: **X^2 mc = 11,56, p = 0,0007**
Fehler bei der herkömmlichen Methode: **33**
Fehler bei BD SurePath: **67**

Tabelle 7 zeigt Ergebnisse von Fällen, die der Referenzpathologe als HSIL+ bezeichnete. Zu den Fehlern gehören WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS und LSIL. Obwohl es nicht dem ursprünglichen Protokoll entspricht[10], wurde ein statistischer Vergleich der Methoden durchgeführt, bei dem LSIL als diagnostischer Fehler im Vergleich zu einem Fall, den der unabhängige Referenzpathologe als HSIL+ definierte, betrachtet wurde. Bei diesem statistischen Vergleich diagnostischer Sensitivitäten, bei dem LSIL als Fehler und nicht als geringe Diskrepanz betrachtet wird, würden die vom **BD PrepStain** System präparierten **BD SurePath**-Objektträger des Liquid-based Pap-Tests für den Nachweis von HSIL+-Abnormalitäten in der Split-Sample-Studie nicht den herkömmlich hergestellten Pap-Abstrichen entsprechen.

MASKIERTE NEUBESTIMMUNG VON HSIL+-FÄLLEN

Es wurde eine neue Auswertung durchgeführt, um herauszufinden, ob die Ergebnisse von der Qualität der Präparation oder von der Subjektivität der Auswertung beeinflusst wurden. Um die 262 Fälle, die in der ursprünglichen Studie als HSIL+ diagnostiziert wurden (Tabelle 7) zu beurteilen, wurde eine zusätzliche Auswertung durchgeführt, nachdem ein neues Ausbildungsprogramm für Zytologen eingeführt wurde, das auf eine konsistente Auswertung der diagnostischen Gruppen des Bethesda-Systems achtet. Diese HSIL+-Fälle wurden als Teil einer Neubestimmung mit insgesamt 2.438 Proben neu maskiert, die nach dem gleichen Split-Sample-Protokoll präpariert wurden. Die Ergebnisse der Studienzentren für die zwei Präparationen wurden dann mit einem neuen Referenzwert verglichen, der bei den abnormalsten zytologischen Diagnosen die Zustimmung von mindestens zwei von drei unabhängigen Referenzpathologen verlangte.

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

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

Herkömmlich präparierter Objektträger

		Erfolg	Fehler	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	153	26	179
	Fehler	24	6	30
		177	32	209

Erfolg = HSIL+
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL
Ergebnis des McNemar-Tests: X^2 mc = 0,02, p = 0,8875
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 26
Fehler bei BD SurePath: 24

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

Tabelle 9 Neubestimmungsstudie: Diskordante Fehleranalyse für Krebsfälle (HSIL wurde in dieser Analyse nicht als Fehler betrachtet, LSIL wurde als Fehler betrachtet)

Herkömmlich präparierter Objektträger

		Erfolg	Fehler	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	32	3	35
	Fehler	3	0	3
		35	3	38

Erfolg = Krebs
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL
Ergebnis des McNemar-Tests: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 3
Fehler bei BD SurePath: 3

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

Die maskierte Neubestimmung bestand aus 2.097 neuen Fällen, die zur Neumaskierung der ursprünglichen HSIL+-Proben benutzt wurden. Die Analyse und der Vergleich der Präparate dieser neuen Fälle folgen in Tabelle 10.

Tabelle 10 Neubestimmungsstudie: Direkter Vergleich der 2.097 Ergebnisse der Zentren – Kein Referenzpathologe

Herkömmlich präparierter Pap-Abstrich

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Insgesamt
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**WNL**	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Insgesamt	1.710	203	3	104	70	7	2.097

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

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

Herkömmlich präparierter Objektträger

		Erfolg	Fehler	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	**Erfolg**	25	21	46
	Fehler	21	10	31
		46	31	77

Erfolg = HSIL+
Fehler = WNL, Reaktiv/Reparativ, ASCUS/AGUS & LSIL
Ergebnis des McNemar-Tests: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Fehler bei der herkömmlichen Methode: 21
Fehler bei BD SurePath: 21

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

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

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

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

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

** Zu den reaktiven reparativen Veränderungen gehörten reaktive Veränderungen im Zusammenhang mit Entzündungen, atrophischer Vaginitis, Strahlung und dem Gebrauch von Intrauterinpessaren sowie typische reparative Veränderungen mit squamösen, squamösen metaplastischen oder hochprismatischen Epithelzellen.

Bei insgesamt 8.807 Fällen wurden weder im Test- noch im Referenzzentrum „unzureichende" Beurteilungen abgegeben. Bei zusätzlichen 239 Proben wurden vom Test- und/oder dem Referenzzentrum eines oder beide Präparate als „unzureichend" bewertet. Von den 239 unbefriedigenden Fällen galten 151 auf nur herkömmlichen Objektträgern, 70 auf nur **BD SurePath**-Objektträgern des Liquid-based Pap-Tests und 18 auf sowohl den herkömmlichen als auch auf den **BD SurePath**-Objektträgern des Liquid-based Pap-Tests als „unbefriedigend". Die unzureichenden Fälle wurden vom diagnostischen Vergleich durch Bethesda-System-Kategorien ausgeschlossen, wurden aber für den Vergleich der Adäquatheit der Präparate wieder hinzugefügt.

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

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

Adäquatheit der Präparate (Anz. Patientinnen: 9.046)	Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger		Herkömmlich präparierter Objektträger	
	N	%	N	%
Zufriedenstellend	7.607	84,1	6.468	71,5
Zufriedenstellend, aber eingeschränkt durch:	1.385	15,3	2.489	27,5
Fehlen des endozervikalen Anteils	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefakt durch Lufttrocknung	0	0	17	0,2
Dicker Abstrich	1	< 0,1	0	0
Trübendes Blut	53	0,6	121	1,3
Trübende Entzündung	102	1,1	310	3,4
Kaum squamöse Epithelzellen	4	< 0,1	7	0,1
Zytolyse	10	0,1	11	0,1
Keine klinische Vorgeschichte	0	0	0	0
Nicht näher beschrieben	60	0,7	1.018	11,3
Unzureichend für die Auswertung:	54	0,6	89	1,0
Fehlen des endozervikalen Anteils	42	0,5	42	0,5
Artefakt durch Lufttrocknung	0	0	0	0
Dicker Abstrich	0	0	2	< 0,1
Trübendes Blut	7	0,1	6	0,1
Trübende Entzündung	6	0,1	6	0,1
Kaum squamöse Epithelzellen	6	0,1	0	0
Zytolyse	0	0	1	< 0,1
Keine klinische Vorgeschichte	0	0	0	0
Nicht näher beschrieben	37	0,4	32	0,5

Hinweis: *Einige Patientinnen sind in mehr als einer Subkategorie vertreten.*

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

Tabelle 14 stellt die Ergebnisse eines Vergleichs der Adäquatheit der Präparate der beiden Methoden dar. Bei den **BD SurePath**-Objektträgern des Liquid-based Pap-Tests gab es bedeutend weniger unbefriedigende und SBLB-Fälle als bei den herkömmlichen Objektträgern.

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

UNSAT: Ergebnis des McNemar-Tests: X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: Ergebnis des McNemar-Tests: X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

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

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

		Herkömmlich präparierter Objektträger		
		SAT	UNSAT	
Mit BD PrepStain präparierter BD SurePath Pap-Test-Objektträger	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

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

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

Zentrum	Fälle	BD SurePath SBLB ohne ECCs N (%)	Herkömmliche SBLB ohne ECCs N (%)
1	995	60 (6,0)	85 (8,5)
2	1.712	121 (7,1)	54 (3,2)
3	712	180 (25,3)	141 (19,8)
4	1.395	165 (11,8)	331 (23,7)
5	500	58 (11,6)	56 (11,2)
6	1.695	473 (28,2)	238 (14,2)
7	589	19 (3,3)	3 (0,5)
8	1.448	207 (14,3)	210 (14,5)
Alle Zentren	9.046	1.283 (14,2)	1.118 (12,4)

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

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

AUSWERTUNG DER PRÄPARATION VON BD SUREPATH LIQUID-BASED PAP-TEST-OBJEKTTRÄGERN MIT DEN MANUELLEN METHODEN VON BD PREPMATE UND BD SUREPATH

BD Diagnostics (früher TriPath Imaging) führte eine prospektive, multizentrische klinische Studie durch, um zwei Veränderungen am von der FDA zugelassenen Verfahren für die Präparation von **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests zu bewerten. Dies waren die Veränderungen am zugelassenen Verfahren für die Präparation von **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests:

- Hinzufügen des **BD PrepMate** Automated Accessory (Automatisches Zusatzgerät) (**BD PrepMate**-Methode), das die ersten manuellen Schritte des **BD PrepStain** Laborverfahrens automatisiert. Die **BD PrepMate**-Methode mischt und entfernt die Probe automatisch aus den **BD SurePath** Collection Vial (Versandgefäße mit Konservierungslösung) und schichtet die Probe auf das **BD** Density Reagent (Dichtereagenz) in einem Teströhrchen.
- Das Hinzufügen der manuellen Methode von **BD SurePath**, bei der die Zellsuspension von einem Laboranten manuell auf den Objektträger geschichtet und gefärbt wird, anstatt mit dem für die Zellsuspension und das Färben des Objektträgers bestimmten **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor).

In dieser Studie wurden mehr als 400 Fälle in einem maskierten Vergleich der zwei Alternativmethoden zu den gegenwärtig zugelassenen Verfahren zur Präparation der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests bewertet. Der Vergleich basierte auf morphologischen und Qualitätskriterien der Objektträger, die mit der jeweiligen Methode hergestellt worden waren.

Die Hauptziele der Studie waren:

- Auswertung der Morphologie- und Qualitätsaspekte der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests, die mit der **BD PrepMate**-Methode hergestellt wurden, im Vergleich mit den Objektträgern, die mit der zugelassenen Methode des **BD PrepStain** Systems (als **BD PrepStain**-Methode bekannt) hergestellt wurden.
- Auswertung der Morphologie- und Qualitätsaspekte der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests, die mit der manuellen **BD SurePath**-Methode hergestellt wurden, im Vergleich mit den Objektträgern, die mit der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode hergestellt wurden.

Zusätzliche Ziele der Studie waren:

- Die Bestimmung, ob die Übereinstimmung zwischen der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode und der **BD PrepMate**-Methode größer war, als sie vom Zufall alleine zu erwarten wäre.
- Die Bestimmung, ob die Übereinstimmung zwischen der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode größer war, als sie vom Zufall alleine zu erwarten wäre.
- Die Beurteilung der Adäquatheit der Proben gemäß den Standards des **BD PrepStain** Systems für die Präparation von **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests mit der **BD PrepMate**-Methode.

- Die Beurteilung der Adäquatheit der Proben gemäß den Standards des **BD PrepStain** Systems für die Präparation von **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests mit der manuellen **BD SurePath**-Methode.

BD PREPMATE AUTOMATED ACCESSORY (AUTOMATISIERTES ZUSATZGERÄT)

Das **BD PrepMate**-Gerät ist ein Zusatzgerät zum **BD PrepStain** System, das zwei manuelle Schritte des **BD PrepStain**-Laborverfahrens automatisiert – das Mischen und das Auftragen der Probe. Die **BD PrepMate**-Methode mischt die Probe gründlich, entfernt sie präzise aus den **BD SurePath** Collection Vials (Versandgefäße mit Konservierungslösung) und schichtet die Probe auf das **BD** Density Reagent (Dichtereagenz) in einem Teströhrchen. Ein Probenhalter, der mit Versandgefäßen, Spritzpipetten und Teströhrchen (mit **BD** Density Reagent (Dichtereagenz) gefüllt) bestückt ist, wird auf das Tablett des Geräts gestellt. Der Probenhalter kann bis zu zwölf Flaschen, Röhrchen und Spritzenpipetten aufnehmen, die in drei Reihen zu je vier angeordnet sind. Flaschen, Spritzenpipetten und Röhrchen sind Einwegartikel. Sie dürfen nur einmal gebraucht werden, um das Risiko einer Probenverunreinigung zu eliminieren.

MANUELLE BD SUREPATH-METHODE

Bei der manuellen **BD SurePath**-Methode wird ein manuelles Verfahren angewendet, um die Zellsuspension auf die Objektträger zu bringen und zu färben. Entnahme und Verarbeitung der gynäkologischen Probe verlaufen für die manuelle Methode und die zugelassene **BD PrepStain**-Methode gleich bis zu dem Punkt, wo der **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor) eingesetzt wird.

Bei der **BD PrepStain**-Methode werden die zentrifugierten Zellpellets für das automatisierte Verfahren zum Färben der **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests direkt auf den **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor) gegeben.

Bei der manuellen **BD SurePath**-Methode wird den zentrifugierten Zellpellets entionisiertes Wasser zugegeben, danach werden sie gevortext, um die Probe zu resuspendieren und zu randomisieren. Die Probe wird in eine **BD** Settling Chamber (Absetzkammer) übertragen, die auf einem **BD SurePath** PreCoat Slide (Beschichteter Objektträger) angebracht ist. Nachdem sich die Probe auf dem Objektträger abgesetzt hat, wird sie mit einem Batch-Färbeverfahren nach Papanicolaou gefärbt.

OBJEKTTRÄGERVERLÄSSLICHKEIT

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

Tabelle 17 Objektträgerverlässlichkeit

	Fälle	Objektträger
Insgesamt in der Studie eingetragen	**471**	**1.413**
Insgesamt von der Analyse ausgeschlossen	**–68**	**–204**
Unvollständige Unterlagen	–39	–117
Inkorrekte Präparation der Objektträger	–24	–72
Andere Gründe für den Ausschluss*	–5	–15
Insgesamt in der Analyse enthalten	**403**	**1.209**

* Fehlende Proben, doppelte Patientennummern usw.

DEMOGRAPHISCHE DATEN DER POPULATION

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

Tabelle 18 Demographische Daten der Patientinnen

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

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

Tabelle 19 Gegenwärtige klinische Informationen

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

Tabelle 20 Krankengeschichte

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

* Beidseitige Eileiterunterbindung, BTL

** Entzündliche Beckenerkrankung

STUDIENERGEBNISSE

Ziel der Studie war es zu zeigen, dass **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests, die mit der **BD PrepMate**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode hergestellt wurden, im Vergleich zu denen, die mit der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode hergestellt wurden, positiv ausfielen. Gemäß den klinischen Daten sind die Objektträger, die mit der **BD PrepMate**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode hergestellt wurden, in Bezug auf Morphologie und Qualität vergleichbar mit denjenigen, die mit der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode hergestellt wurden.

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

MORPHOLOGIE UND QUALITÄT DER PROBEN

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

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

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

Die Akzeptanzraten für die **BD PrepMate**-Methode und die manuelle **BD SurePath**-Methode sind beinahe immer gleich oder größer als die der **BD PrepStain**-Methode. Außerdem überdecken die exakten 95 %igen Vertrauensintervalle der **BD PrepMate**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode diejenigen der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode erheblich für jedes Kriterium. Dies lässt darauf schließen, dass die Objektträger, die mit der **BD PrepMate**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode hergestellt wurden, in Bezug auf Morphologie und Qualität vergleichbar sind mit denjenigen, die mit der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode hergestellt wurden. Deshalb ist die Qualität der Präparation für die zugelassene und die beiden Testmethoden gleich.

DIAGNOSTISCHE ÜBEREINSTIMMUNG

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

Das erste Übereinstimmungsmaß ist der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen und die entsprechenden exakten 95 %igen Vertrauensintervalle. Das zweite Übereinstimmungsmaß wird aus der Kappa-Statistik erworben, die für jeden Vergleich berechnet und getestet wurde. Der Test bestimmt, ob die Übereinstimmung der beiden Methoden größer ist, als sie allein zufallsmäßig zu erwarten wäre. Da die Beobachtungen geordnet sind, ist es wichtig, über Beobachtungen zu verfügen, die nahe an oder auf der Hauptdiagonalen liegen. Die gewichtete Kappa-Statistik bevorzugt Beobachtungen, die auf oder nahe an der Hauptdiagonalen der Tabelle liegen.

VERGLEICH DER ZUGELASSENEN BD PREPSTAIN-METHODE UND DER BD PREPMATE-METHODE

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

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

Die Ergebnisse der Tabelle 22 zeigen, dass die zugelassene **BD PrepStain**-Methode und die **BD PrepMate**-Methode einen großen Anteil von Objektträgern mit diagnostischer Übereinstimmung aufweisen, wie die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen der Tabelle angibt. Außerdem gibt die gewichtete Kappa-Analyse an, dass die Übereinstimmung weitaus größer war, als sie allein zufallsmäßig hätte entstehen können.

Tabelle 22 Kreuztabellierung der Diagnosen mit der **BD PrepStain**- und der **BD PrepMate**-Methode

	Diagnose der BD PrepStain-Methode									
Diagnose mit BD PrepMate-Methode	**UNSAT**	**WNL**	**BCC-RR**	**Atypia**	**LSIL**	**HSIL**	**DYSPL**	**AIS**	**CA**	**Insgesamt**
UNSAT	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
Atypia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Insgesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

VERGLEICH DER ZUGELASSENEN BD PREPSTAIN-METHODE UND DER MANUELLEN BD SUREPATH-METHODE

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

Wenn unzureichende Objektträger von der Tabelle durch Löschen der ersten Reihe und der ersten Spalte ausgeschlossen werden, verbleiben noch 398 Objektträger. Der Anteil der Objektträger auf der Hauptdiagonalen beträgt 0,8794 (350/398) mit 95 %igen Vertrauensgrenzen von 0,8433 bis 0,9097. Die Ergebnisse in Tabelle 23 zeigen, dass die zugelassene **BD PrepStain**-Methode und die manuelle **BD SurePath**-Methode einen großen Anteil von Objektträgern mit diagnostischer Übereinstimmung aufweisen, wie die Anzahl der Objektträger auf der Hauptdiagonalen der Tabelle angibt. Außerdem gibt die gewichtete Kappa-Analyse an, dass die Übereinstimmung weitaus größer war, als sie allein zufallsmäßig hätte entstehen können. Deshalb ist die Qualität der Präparation für die zugelassene und die beiden Testmethoden gleich.

Tabelle 23 Kreuztabellierung der Diagnosen mit der **BD PrepStain**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode

	Diagnose der BD PrepStain-Methode									
Diagnose mit der manuellen Methode	**UNSAT**	**WNL**	**BCC-RR**	**Atypia**	**LSIL**	**HSIL**	**DYSPL**	**AIS**	**CA**	**Insgesamt**
UNSAT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
Atypia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Insgesamt	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ADÄQUATHEIT DER OBJEKTTRÄGER

Die Adäquatheit der Objektträger wurde für jede Präparationsmethode beurteilt. Die Daten wurden mit einem zweiseitigen McNemar-Test[18] analysiert.

In Tabelle 24 werden die Ergebnisse der Adäquatheit des Vergleichs der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode und der **BD PrepMate**-Methode dargestellt.

Tabelle 24 Adäquatheit der Ergebnisse für die Objektträger der **BD PrepMate**-Methode und der **BD PrepStain**-Methode

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

In Tabelle 25 werden die Ergebnisse der Adäquatheit des Vergleichs der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode und der manuellen **BD SurePath**-Methode dargestellt.

Tabelle 25 Adäquatheit der Ergebnisse für die Objektträger der manuellen **BD SurePath**-Methode und der **BD PrepStain**-Methode

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

In diesen zwei Vergleichen wurde gezeigt, dass sich die **BD PrepMate**-Methode und die manuelle **BD SurePath**-Methode in Bezug auf die Adäquatheit der Objektträger nicht von der zugelassenen **BD PrepStain**-Methode unterscheiden.

DIRECT-TO-VIAL-STUDIE

Nachdem das **BD PrepStain** System von der FDA zugelassen wurde, führte BD Diagnostics (früher TriPath Imaging) eine große multizentrische Studie mit dem **BD PrepStain** System durch, in der es wie im Verwendungszweck vorgesehen mit Direct-to-vial-Proben benutzt wurde. Die vorher durchgeführten Studien benutzten eine Split-Sample-Methode, bei der die Probe zuerst für die Präparation eines herkömmlichen Objektträgers für einen Pap-Abstrich benutzt wurde und der Rest der Probe in das **BD SurePath** Collection Vial gegeben und mit dem **BD PrepStain** System verarbeitet wurde, um einen **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests herzustellen. Es ist allgemein anerkannt, dass durch ein Split-Sample-Design die wahre Leistungsfähigkeit des Tests unterschätzt wird, da der Test mit dem verbliebenen Zellmaterial durchgeführt wird.[12]

Diese Studie verglich die Leistungsfähigkeit von **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests, die von Direct-to-vial-Proben hergestellt wurden, mit herkömmlichen Pap-Abstrichen. Die mit **BD SurePath**-Objektträgern für Liquid-based Pap-Tests erhaltenen Ergebnisse wurden mit den Ergebnissen einer Gruppe von herkömmlichen Pap-Abstrichen aus einer historische Kohorte verglichen. Speziell untersuchte diese Studie, ob **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests den Nachweis von hochgradigen squamösen intraepithelialen Läsionen (HSIL), Adenokarzinomen *in situ* und Krebs (HSIL+) verbesserten. Für beide Objektträgerpopulationen wurden alle zur Verfügung stehenden Biopsiematerialien gesammelt.

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

Die herkömmliche Population bestand aus 58.988 Objektträgern aus denselben Kliniken wie die **BD SurePath**-Objektträger für Liquid-based Pap-Tests. Die Sammlung dieser historischen Population begann mit dem jüngsten Objektträger, bevor die Kliniken auf den **BD SurePath** Pap-Test auf Flüssigkeitsbasis umstellten, und ging dann zurück, bis in allen Kliniken die Anzahl der herkömmlichen Population ungefähr der Anzahl der **BD SurePath**-Objektträgerpopulation entsprach.

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

Tabelle 26 Vergleich der Nachweisraten nach Zentren

HSIL+

Zentrum	Herkömmlich			BD SurePath		
	Insgesamt	HSIL+	Prozent (%)	Insgesamt	HSIL+	Prozent (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Insgesamt	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Zentrum	Herkömmlich			BD SurePath		
	Insgesamt	LSIL+	Prozent (%)	Insgesamt	LSIL+	Prozent (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1.501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Insgesamt	58.988	960	1,627	58.580	1.975	3,371

ASCUS+

Zentrum	Herkömmlich			BD SurePath		
	Insgesamt	ASCUS+	Prozent (%)	Insgesamt	ASCUS+	Prozent (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Insgesamt	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Unzureichend

Zentrum	Herkömmlich			BD SurePath		
	Insgesamt	UNSAT+	Prozent (%)	Insgesamt	UNSAT+	Prozent (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Insgesamt	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

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

VERFAHREN

Das komplette Verfahren zur Präparation der **BD SurePath** Objektträger für **BD SurePath** Liquid-based Pap-Tests ist im Benutzerhandbuch für **BD PrepStain** Slide Processor (Objektträger-Prozessor) angegeben.

LITERATUR: S. “References” im englischen Text.

BD Diagnostics Technischer Kundendienst: setzen Sie sich mit Ihrer zuständigen BD-Vertretung oder www.bd.com/ds.

BD PrepStain System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate** Consumables Kit (kit materiali di consumo)
REF 491311	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit materiali di consumo)
REF 491312	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit materiali di consumo) – Giappone

USO PREVISTO

Il sistema **BD PrepStain** (in precedenza AutoCyte PREP) è un procedimento di allestimento di preparati cellulari a strato sottile e base liquida. Il sistema **BD PrepStain** genera i vetrini per pap test con base liquida **BD SurePath** Liquid-based Pap Test da usarsi in sostituzione dei convenzionali Pap smear ginecologici. I vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (in precedenza vetrini AutoCyte PREP) devono essere usati nello screening e nell'individuazione del carcinoma cervicale, delle lesioni precancerose, delle cellule atipiche e di tutte le altre categorie citologiche definite dal Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses.[1]

BD 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^x e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q^x Amplified DNA Assays. Per istruzioni sull'uso del conservante **BD SurePath** per la preparazione dei campioni di utilizzare in questi saggi, fare riferimento al foglietto illustrativo.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

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

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

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

* Nota: per il test ausiliario, è possibile prelevare l'aliquota massima di 0,5 mL dopo la fase di agitazione su vortex nei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (pap test con base liquida).

LIMITAZIONI

- I campioni ginecologici per l'allestimento con il sistema **BD PrepStain** devono essere raccolti utilizzando un dispositivo di prelievo del tipo cervex brush o un dispositivo endocervicale del tipo brush/spatola in plastica con teste smontabili, conformemente alla procedura di raccolta standard indicata dal produttore. Non utilizzare spatole in legno con il sistema **BD PrepStain**. Non utilizzare dispositivi endocervicali del tipo brush/spatola in plastica con teste smontabili con il sistema **BD PrepStain**.
- Un addestramento adeguato sotto la guida di persone autorizzate è un requisito fondamentale per poter preparare ed esaminare i vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. I citotecnici e patologi devono essere addestrati per la valutazione della morfologia sui vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. L'addestramento prevede un esame di competenza. Alle clienti del laboratorio vengono forniti set informativi sui vetrini e sul test. BD Diagnostics è disposta inoltre a seguire i clienti nella preparazione di vetrini di addestramento ottenuti dalle specifiche popolazioni di pazienti.
- Il funzionamento appropriato del sistema **BD PrepStain** richiede l'uso esclusivo delle forniture supportate o raccomandate da BD Diagnostics da utilizzare con il sistema **BD PrepStain**. I materiali e i prodotti usati devono essere smaltiti in maniera appropriata, in conformità alle norme istituzionali e governative.
- Tutte le forniture sono monouso e non sono riutilizzabili.
- Per i vetrini **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (pap test con base liquida), è necessario un volume di 8,0 ± 0,5 mL del campione raccolto in una **BD SurePath** Collection Vial (fiala di raccolta).

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

I campioni citologici possono contenere agenti infettivi. Indossare indumenti e guanti protettivi adatti e protezioni per occhi e viso. Durante la manipolazione dei campioni, seguire le precauzioni relative ai materiali a rischio biologico.

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

Attenzione

H226 Liquido e vapori infiammabili.

P233 Tenere il recipiente ben chiuso. **P280** Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. **P303+P361+P353** IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia. **P403+P235** Conservare in luogo fresco e ben ventilato. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

BD Density Reagent contiene sodio azide. Non ingerire.

Attenzione

H302 Nocivo se ingerito.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P301+P312** IN CASO DI INGESTIONE: In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

BD EA/OG Combo Stain (colorante combinato EA/OG) contiene etanolo, metanolo e acido acetico. Non ingerire.

Pericolo

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili. **H312+H332** Nocivo a contatto con la pelle o se inalato. **H370** Provoca danni agli organi.

P264 Lavarsi accuratamente dopo l'uso. **P280** Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. **P312** In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. **P403+P235** Conservare in luogo fresco e ben ventilato. **P501** Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alle normative locali/regionali/nazionali/internazionali.

PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Soltanto per uso professionale.
- È necessario seguire ottime pratiche di laboratorio e osservare scrupolosamente tutte le procedure per l'uso del sistema **BD PrepStain**.
- Conservare i reagenti a temperatura ambiente (15 – 30 °C) e utilizzarli prima delle date di scadenza per garantire un rendimento ottimale. Lo stoccaggio di **BD SurePath** Preservative Fluid privo di campioni citologici è di un massimo di 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (15 – 30 °C). La durata massima di conservazione del **BD SurePath** Preservative Fluid

contenente campioni citologici è di 6 mesi a temperatura refrigerata (2 – 10 °C) o 4 settimane a temperatura ambiente (15 – 30 °C). **BD SurePath** Preservative Fluid contenente i campioni citologici da usare nei dosaggi di amplificazione del DNA **BD ProbeTec** CT Q^x e GC Q^x può essere conservato e trasportato per un massimo di 30 giorni a una temperatura compresa fra 2 °C e 30 °C prima di essere trasferito nelle provette di diluizione di campioni citologici a base liquida (LBC) per i dosaggi di amplificazione del DNA **BD ProbeTec** Q^x.

- Evitare schizzi o la generazione di aerosol. Utilizzare mezzi di protezione adeguati per le mani, gli occhi e gli indumenti.
- **BD SurePath** Preservative Fluid (conservante) è battericida ed è stato sottoposto con esito positivo a test di efficacia nei confronti di *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger*. I campioni nella fiala con **BD SurePath** Preservative Fluid inoculati con 10^6 CFU/mL di ciascuna specie non hanno evidenziato alcuna crescita dopo 14 giorni (28 giorni per il *Mycobacterium tuberculosis*) di incubazione in condizioni standard. Tuttavia, è opportuno adottare sempre le precauzioni standard per una manipolazione sicura dei liquidi biologici.
- La mancata osservanza delle procedure raccomandate descritte nel manuale per l'operatore del sistema **BD PrepStain** può inficiarne il rendimento.

PRELIEVO OPZIONALE DI UN'ALIQUOTA

- **BD SurePath** Collection Vial (fiala per prelievo) contiene un volume di campione sufficiente a consentire il prelievo di un massimo di 0,5 mL di miscela omogenea di cellule e liquido per i test ausiliari prima del pap test **BD SurePath** con base liquida conservando ancora volume sufficiente per questo test.
- Non esistono prove che il prelievo di un'aliquota di campione da **BD SurePath** Collection Vial (fiala per prelievo) 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 all'anamnesi clinica della paziente, può essere necessario il prelievo di un altro campione da parte degli operatori sanitari. Inoltre, poiché la citologia affronta problemi clinici diversi dai test sulle malattie sessualmente trasmissibili (STD), il prelievo dell'aliquota può non essere idoneo a tutte le situazioni cliniche. Se necessario, si può prelevare un altro campione per il test STD invece di prelevare un'aliquota dal **BD SurePath** Collection Vial.
- Il prelievo di un'aliquota da campioni a bassa cellularità può lasciare in **BD SurePath** Collection Vial (fiala per prelievo) materiale insufficiente per la preparazione di un **BD SurePath** Liquid-based Pap Test soddisfacente.
- L'aliquota deve essere prelevata prima dell'esecuzione del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Prima dell'esecuzione del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, è possibile prelevare una sola aliquota dal **BD SurePath** Collection Vial, indipendentemente dal volume dell'aliquota.

Procedura

1. Per garantire una miscela omogenea, il **BD SurePath** Collection Vial deve essere agitato in vortex per 10 – 20 secondi e poi l'aliquota da 0,5 mL deve essere prelevata entro un minuto.
2. Per il prelievo dell'aliquota è necessario usare una punta per pipette di polipropilene con barriera antiaerosol di misura appropriata al volume da prelevare. *N.B.* Non usare pipette sierologiche. Seguire le corrette pratiche di laboratorio per non rischiare di introdurre contaminanti nel **BD SurePath** ocollection vial o nell'aliquota. Il prelievo dell'aliquota dovrebbe essere effettuato in una zona adatta, fuori dall'area in cui viene eseguita l'amplificazione.
3. Verificare visivamente che il materiale dell'aliquota dentro la pipetta non presenti particolati 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 sull'elaborazione dell'aliquota usando i saggi di amplificazione del DNA **BD ProbeTec** CT Q^x e GC Q^x Amplified DNA Assays, fare riferimento al foglietto illustrativo del saggio, fornito dal produttore del saggio.

STOCCAGGIO

Le condizioni di stoccaggio del conservante **BD SurePath** Preservative Fluid privo di campioni citologici sono fino a 36 mesi dalla data di produzione a temperatura ambiente (15 – 30 °C).

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

Il BD SurePath Preservative Fluid contenente i campioni citologici da usare nei saggi di amplificazione del DNA **BD ProbeTec** CT Q^x e GC Q^x 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 in fase liquida (LBC) per i saggi di amplificazione del DNA **BD ProbeTec** Q^x.

MATERIALI NECESSARI

Consultare il manuale per l'operatore di **BD PrepStain** Slide Processor (processore per vetrini) per informazioni dettagliate riguardanti i reagenti, i componenti e gli accessori. Non tutti i materiali elencati di seguito sono necessari per l'allestimento manuale dei vetrini **BD SurePath** (senza l'uso del processore per vetrini **BD PrepStain**).

Materiali forniti

- **BD PrepStain** Slide Processor (processore per vetrini)
- **BD SurePath** Collection Vial (fiala di raccolta) (include **BD SurePath** Preservative Fluid)
- Uno o più dispositivi di prelievo cervicale con una o più teste staccabili
- **BD** Density Reagent (reagente di densità)
- **BD** Syringing Pipettes (pipette di erogazione)
- **BD** Settling Chambers (camere di sedimentazione)
- **BD** Cytology Stain Kit (kit di colorazione per citologia)
- **BD SurePath** PreCoat Slides (vetrini)
- **BD** Centrifuge Tubes (provette per centrifuga)
- Rack per vetrini e provette
- **BD PrepStain** Transfer Tips (puntali per trasferimento)
- **BD** Aspirator Tips (puntali per aspiratore)

Materiali necessari ma non forniti

- Miscelatore vortex
- Acqua deionizzata (pH 7,5 - 8,5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse (risciacquo miscelato con alcol) o isopropanolo e alcool per reagente
- Diafanizzante, mezzo di montaggio, vetrini coprioggetti

INTERPRETAZIONE DIAGNOSTICA E ADEGUATEZZA DELL'ALLESTIMENTO

Dopo la formazione dell'utente autorizzata da BD Diagnostics per l'uso del sistema **BD PrepStain** e dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, ai vetrini **BD SurePath** vengono applicati i criteri diagnostici di citologia del Bethesda System attualmente in uso nei laboratori di citologia per i Pap smear convenzionali.[1] Le linee guida del Bethesda 2001 Reporting System riguardano le preparazioni a base liquida e definiscono il metodo per determinare una cellularità adeguata specificamente per questi preparati.

In assenza di cellule anomale, il preparato è considerato inadeguato se sono presenti una o più condizioni descritte di seguito:

(1) Numeri inadeguati di cellule diagnostiche (meno di 5.000 cellule squamose epiteliali per preparato). Segue la descrizione delle procedure raccomandate per la stima del conteggio di cellule dell'epitelio squamoso ben conservate sui vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test:
   - Per ciascun modello di microscopio usato nello screening, controllare il manuale del produttore del microscopio o contattare il produttore del microscopio per stabilire l'area del campo visivo utilizzando l'oculare desiderato e l'obiettivo 40x. In alternativa, calcolare l'area del campo utilizzando un emocitometro o una scala di misurazione dei vetrini analoga (area del campo = πr^2, dove r è il raggio del campo).
   - La media minima del numero di cellule per il campo dell'obiettivo 40x deve essere determinata dividendo la superficie approssimativa di deposito delle cellule pari a 130 mm^2 del vetrino del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test per l'area del campo del microscopio specifico. Il numero ottenuto viene quindi diviso per le 5.000 cellule che rappresentano il numero minimo. Il risultato equivale alla media di adeguatezza minima raccomandata per le cellule epiteliali in un campo visivo dell'obiettivo 40x. Annotare tale numero e conservarlo come riferimento per i tecnici citologici. Le linee guida Bethesda 2001 indicano il numero approssimativo di cellule per campo per una preparazione da 13 mm.
   - Contare almeno dieci campi orizzontalmente o verticalmente al centro del diametro del preparato.
   - Come mezzo pratico di valutazione della cellularità, è possibile utilizzare la valutazione macroscopica della densità ottica del preparato colorato per verificare l'adeguatezza degli allestimenti. Tuttavia, non esiste alcun sostituto per la principale valutazione microscopica eseguita dal tecnico citologico nel corso del procedimento di screening.

(2) Il 75% o più delle componenti cellulari è oscurato da infiammazione, sangue, batteri, muco o artefatti che precludono l'interpretazione citologica del vetrino.

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

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI: STUDI CLINICI

Primo studio su campioni analizzati con due metodi (split-sample)

BD Diagnostics (nota precedentemente come TriPath Imaging) ha condotto uno studio clinico crociato, split-sample, in cieco, prospettico in più siti per confrontare i risultati diagnostici dei vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test prodotti con il sistema **BD PrepStain** con quelli dei Pap smear allestiti in modo tradizionale. L'obiettivo dello studio è stato di valutare il rendimento del pap test con base liquida **BD SurePath** rispetto al Pap smear convenzionale nell'individuazione del carcinoma cervicale, delle lesioni precancerose e delle cellule atipiche in svariate popolazioni di pazienti e strutture di laboratorio. Per entrambi i preparati si è valutata inoltre l'adeguatezza.

Conformemente alle raccomandazioni del documento "Points to Consider" della FDA per i dispositivi di citologia cervicale,[10] è stato preparato innanzi tutto il Pap smear convenzionale e quindi il campione rimanente sul dispositivo di prelievo di tipo cervex brush è stato depositato nel **BD SurePath** Collection Vial.

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

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

Caratteristiche delle pazienti

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

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

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

Risultati dello studio

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

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

La Tabella 1 presenta un confronto diretto dei risultati in tutti i siti per i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test e i vetrini convenzionali per le categorie di trattamento diagnostico: entro limiti normali (WNL, Within Normal Limits), cellule squamose atipiche di significato indeterminato/cellule ghiandolari atipiche di significato indeterminato (ASCUS/AGUS, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance), lesione intraepiteliale squamosa a basso grado (LSIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion), lesione intraepiteliale squamosa ad alto grado (HSIL, High-grade Squamous Intraepithelial Lesion) e cancro (CA, Cancer).

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

Risultati per sito

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

SP = **BD SurePath**
CN = Convenzionale

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

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

Pap smear allestito in modo tradizionale

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Totale
Pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**WNL**	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Totale	7.768	531	39	271	177	21	8.807

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

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

Vetrino allestito in modo tradizionale

		Riuscito	Errore	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	113	205	318
	Errore	180	229	409
		293	434	727

Riuscito = ASCUS/AGUS
Errore = WNL e Reactive/Reparative
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 1,62, p = 0,2026
Errori test convenzionale: 205
Errori test BD SurePath: 180

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	140	63	203
	Errore	54	86	140
		194	149	343

Riuscito = LSIL
Errore = WNL, Reactive/Reparative e ASCUS/AGUS
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 0,69, p = 0,4054
Errori test convenzionale: 63
Errori test BD SurePath: 54

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	160	28	188
	Errore	36	38	74
		196	66	262

Riuscito = HSIL+
Errore = WNL, Reactive/Reparative e ASCUS/AGUS
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 1,00, p = 0,3173
Errori test convenzionale: 28
Errori test BD SurePath: 36

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	19	2	21
	Errore	5	1	6
		24	3	27

Riuscito = CA
Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 1,645, p = 0,1980
Errori test convenzionale: 2
Errori test BD SurePath: 5

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	94	33	127
	Errore	67	68	135
		161	101	262

Riuscito = (HSIL+)
Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 11,56, p = 0,0007
Errori test convenzionale: 33
Errori test BD SurePath: 67

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

RIESAME IN CIECO DEI CASI DI HSIL+

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

Nel procedimento di riferimento per il nuovo esame, entrambi gli allestimenti dei vetrini dei casi discordanti (vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparati con sistema **BD PrepStain** e vetrini preparati in modo tradizionale) sono stati rianalizzati da un secondo tecnico citologico e le nuove anomalie identificate sono state integrate in quelle dello screening iniziale. Tre citopatologi di riferimento hanno quindi esaminato tutti i casi discordi secondo un protocollo in cieco. Questo metodo di riferimento più rigido ha portato il numero di casi di riferimento HSIL+ da 262 nello studio iniziale a 209 nel riesame. La differenza dei 53 casi può essere spiegata nel seguente modo: 48 casi sono stati diagnosticati da un metodo di riferimento più rigido come LSIL o meno severo; l'adeguatezza di 3 casi è stata giudicata insufficiente dopo il nuovo esame e gli altri 2 casi non erano disponibili per la valutazione nello studio di rivalutazione in cieco.

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	153	26	179
	Errore	24	6	30
		177	32	209

Riuscito = HSIL+
Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 0,02, p = 0,8875
Errori test convenzionale: 26
Errori test BD SurePath: 24

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	32	3	35
	Errore	3	0	3
		35	3	38

Riuscito = CA
Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Errori test convenzionale: 3
Errori test BD SurePath: 3

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

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

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

		Pap smear allestito in modo tradizionale						
		WNL	**ASCUS**	**AGUS**	**LSIL**	**HSIL**	**CA**	**Totale**
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**WNL**	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Totale	1.710	203	3	104	70	7	2.097

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

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

		Vetrino allestito in modo tradizionale		
		Riuscito	**Errore**	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**Riuscito**	25	21	46
	Errore	21	10	31
		46	31	77

Riuscito = HSIL+
Errore = WNL, Reactive/Reparative, ASCUS/AGUS e LSIL
Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Errori test convenzionale: 21
Errori test BD SurePath: 21

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

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

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

Diagnosi descrittiva (Numero di pazienti: 8.807)	**Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain**		**Vetrino allestito in modo tradizionale**	
	N.	%	N.	%
Alterazioni cellulari benigne * Infezione:				
Specie di *Candida*	440	5,0	445	5,1
Trichomonas vaginalis	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Specie di *Actinomyces*	6	0,1	2	<0,1
Batteri (altri)	52	0,6	191	2,2
** Alterazioni riparatrici reattive	424	4,8	319	3,6

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

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

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

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

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

Adeguatezza dell'allestimento (Numero di pazienti: 9.046)	**Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain**		**Vetrino allestito in modo tradizionale**	
	N.	%	N.	%
Adeguato	7.607	84,1	6.468	71,5
Adeguato ma limitato da:	1.385	15,3	2.489	27,5
Componente endocervicale assente	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefatto per essiccazione all'aria	0	0	17	0,2
Striscio denso	1	< 0,1	0	0
Sangue oscurante	53	0,6	121	1,3
Infiammazione oscurante	102	1,1	310	3,4
Cellule dell'epitelio squamoso insufficienti	4	< 0,1	7	0,1
Citolisi	10	0,1	11	0,1
Assenza di storia clinica	0	0	0	0
Non specificato	60	0,7	1.018	11,3
Inadeguato ai fini della valutazione	54	0,6	89	1,0
Componente endocervicale assente	42	0,5	42	0,5
Artefatto per essiccazione all'aria	0	0	0	0
Striscio denso	0	0	2	< 0,1
Sangue oscurante	7	0,1	6	0,1
Infiammazione oscurante	6	0,1	6	0,1
Cellule dell'epitelio squamoso insufficienti	6	0,1	0	0
Citolisi	0	0	1	< 0,1
Assenza di storia clinica	0	0	0	0
Non specificato	37	0,4	32	0,5

N.B.: *per alcune pazienti esiste più di una categoria secondaria.*

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

La Tabella 14 mostra i risultati del confronto sull'adeguatezza dell'allestimento con entrambi i metodi. È stato riscontrato un numero decisamente inferiore di casi inadeguati e SBLB con i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test rispetto a quanto rilevato con i vetrini convenzionali.

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

Vetrino allestito in modo tradizionale

		SAT	SBLB	UNSAT	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**SAT**	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

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

Nella Tabella 15 è presentato il confronto degli allestimenti adeguati e inadeguati esaminati nei siti dello studio e nel sito di riferimento. Rispetto ai vetrini convenzionali, i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test mostrano una riduzione statisticamente significativa di casi inadeguati.

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

Vetrino allestito in modo tradizionale

		SAT	UNSAT	
Vetrino per pap test BD SurePath preparato con sistema BD PrepStain	**SAT**	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Risultato del test di McNemar: X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

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

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

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

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

VALUTAZIONE DELL'ALLESTIMENTO DEI VETRINI PER LIQUID-BASED PAP TEST BD SUREPATH CON IL METODO BD PREPMATE E IL METODO MANUALE BD SUREPATH

BD Diagnostics (nota precedentemente come TriPath Imaging) ha condotto uno studio clinico, prospettico, in più centri per valutare due modifiche relative alla procedura approvata dalla FDA di allestimento dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Le modifiche al procedimento approvato per l'allestimento dei vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test sono descritte di seguito:

- L'integrazione dell'accessorio automatico **BD PrepMate** Automated Accessory (metodo **BD PrepMate**), che automatizza le fasi iniziali manuali del procedimento di laboratorio **BD PrepStain**. Il metodo **BD PrepMate** miscela e rimuove automaticamente il campione dal **BD SurePath** Collection Vial e stratifica il campione sul **BD** Density Reagent in una provetta.
- L'integrazione del metodo manuale **BD SurePath**, in cui, anziché usare il **BD PrepStain** Slide Processor per la sospensione cellulare e la colorazione dei vetrini, la sospensione cellulare viene stratificata manualmente sul vetrino e colorata da un tecnico di laboratorio.

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

Gli obiettivi principali dello studio sono stati di:

- valutare gli aspetti inerenti alla morfologia e alla qualità dei vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test allestiti utilizzando il metodo **BD PrepMate** rispetto ai vetrini allestiti con il metodo approvato di utilizzo del sistema **BD PrepStain** (indicato come metodo **BD PrepStain**);
- valutare gli aspetti inerenti alla morfologia e alla qualità dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test allestiti avvalendosi del metodo manuale **BD SurePath** rispetto ai vetrini allestiti con il metodo approvato **BD PrepStain**).

Altri obiettivi dello studio sono stati di:

- stabilire se il livello di concordanza tra il metodo **BD PrepStain** approvato e il metodo **BD PrepMate** era superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire alla pura casualità;
- stabilire se il livello di concordanza tra il metodo **BD PrepStain** approvato e il metodo manuale **BD SurePath** era superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire alla pura casualità;
- valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema **BD PrepStain** per l'allestimento dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test avvalendosi del metodo **BD PrepMate**;
- valutare l'adeguatezza dei campioni secondo gli standard del sistema **BD PrepStain** per l'allestimento dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test avvalendosi del metodo manuale **BD SurePath**.

ACCESSORIO AUTOMATICO BD PREPMATE AUTOMATED ACCESSORY

Lo strumento **BD PrepMate** è un accessorio per il sistema **BD PrepStain** che automatizza due fasi manuali del procedimento di laboratorio **BD PrepStain**: la miscelazione e la stratificazione del campione. Il metodo **BD PrepMate** miscela e rimuove accuratamente il campione dal **BD SurePath** Collection Vial e stratifica il campione sul reagente di densità **BD** in una provetta. Il rack dei campioni precaricato con le fiale di raccolta, le pipette di erogazione e le provette (contenenti il reagente di densità **BD**) viene posizionato sulla vaschetta dello strumento. Il rack contiene fino a dodici fiale, provette e pipette di erogazione sistemate su tre file per quattro ciascuna. Le fiale, le pipette di erogazione e le provette sono monouso e devono essere usate solo una volta in modo da eliminare la possibilità di contaminazione dei campioni.

METODO MANUALE BD SUREPATH

Il metodo manuale **BD SurePath** si avvale di una procedura manuale per stratificare la sospensione cellulare sui vetrini e colorare il preparato. Il prelievo e l'analisi dei campioni ginecologici sono identici per i metodi manuale e **BD PrepStain** approvato fino al punto di utilizzo del processore per vetrini **BD PrepStain** Slide Processor.

Nel metodo **BD PrepStain**, i precipitati di cellule centrifugate sono collocati direttamente sul processore per vetrini **BD PrepStain** per l'analisi automatizzata in modo da produrre i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test colorati.

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

ORGANIZZAZIONE DEI VETRINI

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

Tabella 17 Organizzazione dei vetrini

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

* Campioni mancanti, numeri paziente duplici ecc.

DATI DEMOGRAFICI INERENTI ALLA POPOLAZIONE

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

Tabella 18 Dati demografici delle pazienti

Età	Numero di casi
19 o meno	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Totale	403

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

Tabella 19 Informazioni cliniche attuali

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

Tabella 20 Storia clinica

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

* Legatura delle tube

** Malattia infiammatoria pelvica

RISULTATI DELLO STUDIO

L'obiettivo di questo studio è stato di accertare se i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test allestiti mediante le procedure del metodo **BD PrepMate** e del metodo manuale **BD SurePath** reggono il confronto con quelli allestiti utilizzando il metodo **BD PrepStain** approvato. I dati clinici dimostrano che i vetrini allestiti con il metodo **BD PrepMate** e con il metodo manuale **BD SurePath** sono equiparabili in termini di morfologia e qualità a quelli allestiti con il metodo **BD PrepStain** approvato. I dati clinici dimostrano inoltre che il rendimento diagnostico è uguale per il metodo **BD PrepMate** e il metodo manuale **BD SurePath** rispetto al metodo **BD PrepStain** approvato. Infine, l'adeguatezza dei vetrini allestiti con il metodo **BD PrepMate** e con il metodo manuale **BD SurePath** non è diversa da quella rilevata per i vetrini allestiti con il metodo **BD PrepStain** approvato. Questi risultati avvalorano la comparabilità del metodo **BD PrepMate** e del metodo manuale **BD SurePath** con il metodo **BD PrepStain** approvato.

MORFOLOGIA E QUALITÀ DEI CAMPIONI

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

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

		Metodo di allestimento dei vetrini					
		BD PrepStain		BD PrepMate		Metodo manuale BD SurePath	
		Tasso (n/N)	CI 95% esatto	Tasso (n/N)	CI 95% esatto	Tasso (n/N)	CI 95% esatto
Criteri di accettabilità	Colorazione	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0.9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Chiarezza	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nucleare	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Citologia	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Cluster	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Cellularità	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

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

CONCORDANZA DIAGNOSTICA

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

La prima misura di concordanza è la proporzione di vetrini sulla diagonale principale e gli esatti intervalli di confidenza del 95% corrispondenti. La seconda misura di concordanza viene ottenuta dalla statistica kappa, che è stata calcolata per ciascun confronto e collaudata. Il test stabilisce se la quantità di concordanza tra i due metodi è superiore a quanto si sarebbe potuto attribuire alla pura casualità. Poiché le osservazioni sono ordinate, è più importante avere osservazioni che rimangono sulla diagonale principale o nelle sue prossimità. La statistica kappa ponderata conferisce maggiore peso alle osservazioni che si trovano sulla diagonale principale delle tabelle o nelle prossimità.

CONFRONTO DEI METODI BD PREPSTAIN APPROVATO E BD PREPMATE

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

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

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

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

		Diagnosi con il metodo BD PrepStain									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totale
Diagnosi con il metodo BD PrepMate	UNSAT	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atipia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Totale	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

CONFRONTO DEL METODO BD PREPSTAIN APPROVATO E DEL METODO MANUALE BD SUREPATH

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

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

Tabella 23 Tabulazione incrociata delle diagnosi con il metodo **BD PrepStain** e il metodo manuale **BD SurePath**

		Diagnosi con il metodo BD PrepStain									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Totale
Diagnosi con metodo manuale	UNSAT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atipia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Totale	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ADEGUATEZZA DEI VETRINI

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

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

Tabella 24 Risultati relativi all'adeguatezza per i vetrini allestiti con metodi **BD PrepMate** e **BD PrepStain**

		Risultato ottenuto con il metodo BD PrepStain		
		SAT o SBLB	UNSAT	
Risultato ottenuto con il metodo BD PrepMate	SAT o SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

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

Tabella 25 Risultati relativi all'adeguatezza per i vetrini allestiti con il metodo manuale **BD SurePath** e con il metodo **BD PrepStain**

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

Questi due confronti dimostrano che il metodo **BD PrepMate** e il metodo manuale **BD SurePath** non sono diversi dal metodo **BD PrepStain** approvato per quanto concerne l'adeguatezza dei vetrini.

STUDIO DIRECT-TO-VIAL

In seguito all'approvazione iniziale della FDA del sistema **BD PrepStain**, BD Diagnostics (nota precedentemente come TriPath Imaging) ha condotto un ampio studio multicentrico sul sistema **BD PrepStain** in caso d'uso corretto con campioni direct-to-vial. I precedenti studi clinici utilizzavano il metodo split-sample secondo cui il campione veniva usato prima per creare un vetrino con Pap smear convenzionale e il campione residuo veniva collocato nel **BD SurePath** Collection Vial e analizzato con il sistema **BD PrepStain** per creare un vetrino per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. È appurato che gli studi split-sample stimano per difetto il vero rendimento del test preparato dal materiale cellulare residuo.[12]

Questo studio ha confrontato il rendimento dei vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test ottenuti con i campioni direct-to-vial prelevati con Pap smear convenzionali. I risultati ottenuti con i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test sono stati confrontati con i risultati ottenuti da una coorte storica di Pap smear convenzionali. In particolare, questo studio ha valutato se i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test miglioravano il rilevamento di lesioni squamose intraepiteliali di alto grado (HSIL), adenocarcinoma *in situ* e cancro (HSIL+). Tutti i dati disponibili delle biopsie sono stati prelevati per le popolazioni di vetrini.

La popolazione **BD SurePath** era composta da 58.580 vetrini prelevati in modo prospettico da 57 cliniche che avevano convertito quasi il 100% del prelievo con Pap smear convenzionale in prelievo di campioni con **BD SurePath**. I campioni prelevati presso queste cliniche sono stati inviati a tre siti clinici per l'analisi.

La popolazione convenzionale era rappresentata da 58.988 vetrini provenienti dalle stesse cliniche dei vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Questa popolazione storica è stata raccolta partendo dai vetrini più recenti prima che le cliniche passassero al **BD SurePath** Liquid-based Pap Test e quindi tornando indietro nel tempo fino al raggiungimento approssimativo dello stesso numero per le popolazioni di vetrini convenzionali e di vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test in ciascun sito clinico.

I risultati di questo studio hanno dimostrato una percentuale di rilevamento di 405/58.580 per i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test rispetto a 248/58.988 per i vetrini convenzionali, portando rispettivamente a percentuali di rilevamento di 0,691% e 0,420% (consultare la Tabella 26). Per questi particolari siti clinici e per tali popolazioni oggetto dello studio, i dati si traducono in un aumento del 64,4% (p<0,00001) di casi individuati di lesioni HSIL+ per i vetrini del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

Tabella 26 Confronto di percentuali di rilevamento per sito

HSIL+

Sito	Vetrino convenzionale			BD SurePath		
	Totale	HSIL+	Percentuale (%)	Totale	HSIL+	Percentuale (%)
1	41.274	216	0,523	40.735	300	0,736
2	10.421	19	0,182	10.676	78	0,731
3	7.293	13	0,178	7.169	27	0,377
Totale	58.988	248	0,420	58.580	405	0,691

LSIL+

Sito	Vetrino convenzionale			BD SurePath		
	Totale	LSIL+	Percentuale (%)	Totale	LSIL+	Percentuale (%)
1	41.274	765	1,853	40.735	1501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Totale	58.988	960	1,627	58.580	1975	3,371

ASCUS+

Sito	Vetrino convenzionale			BD SurePath		
	Totale	ASCUS+	Percentuale (%)	Totale	ASCUS+	Percentuale (%)
1	41.274	1.439	3,486	40.735	2.612	6,412
2	10.421	347	3,330	10.676	689	6,454
3	7.293	276	3,784	7.169	285	3,975
Totale	58.988	2.062	3,496	58.580	3.586	6,122

Inadeguato

Sito	Vetrino convenzionale			BD SurePath		
	Totale	UNSAT+	Percentuale (%)	Totale	UNSAT+	Percentuale (%)
1	41.274	132	0,320	40.735	37	0,091
2	10.421	163	1,564	10.676	89	0,834
3	7.293	20	0,274	7.169	4	0,056
Totale	58.988	315	0,534	58.580	130	0,222

N.B.: *sono previste variazioni da sito a sito in relazione alle prestazioni. Ogni laboratorio dovrà monitorare attentamente la qualità del proprio lavoro.*

PROCEDURA

Nel Manuale per l'operatore del **BD PrepStain** Slide Processor sono fornite le procedure complete per la preparazione dei vetrini per **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.

BD PrepStain System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate** Consumables Kit (kit de consumibles)
REF 491311	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit de consumibles)
REF 491312	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit de consumibles) – Japón

USO PREVISTO

El sistema **BD PrepStain** (anteriormente conocido como sistema AutoCyte PREP) es un proceso de preparación de una capa fina de células en base líquida. El sistema **BD PrepStain** produce portaobjetos de **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (citología vaginal en base líquida) que se utilizan en sustitución de las citologías ginecológicas de Papanicolaou convencionales. Los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (anteriormente conocidos como portaobjetos AutoCyte PREP) se utilizan en el cribado y la detección de cáncer del cuello uterino, lesiones precursoras, células atípicas y todas las demás categorías citológicas definidas por *The Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses* para indicar diagnósticos citológicos vaginales y de cuello uterino[1].

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

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El sistema **BD PrepStain** convierte una suspensión líquida de una muestra de células del cuello uterino en una capa fina, homogénea y ligeramente teñida de células, conservando al mismo tiempo agrupamientos de células de diagnóstico[2-9]. El proceso incluye la conservación de las células, la aleatorización, el enriquecimiento del material de diagnóstico, el pipeteado, la sedimentación, la tinción y el cubrimiento para crear un portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test con el fin de utilizarlo en pruebas citológicas rutinarias de cribado y clasificación según la definición de The Bethesda System[1]. El portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test presenta una población de células teñidas bien conservadas dentro de un círculo de 13 mm de diámetro. Se eliminan en gran medida los artefactos de secado por aire, el material celular que se solapa y dificulta el diagnóstico y los detritos. El número de leucocitos se reduce significativamente, lo que facilita la visualización de las células epiteliales, las células relevantes desde el punto de vista diagnóstico y los organismos infecciosos.

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

En el laboratorio, la muestra conservada se mezcla con vórtex* y se transfiere al **BD** Density Reagent (reactivo de densidad). Un paso de enriquecimiento, que consiste en la sedimentación centrífuga a través de **BD** Density Reagent, elimina parcialmente los detritos no diagnósticos y el exceso de células inflamatorias de la muestra. Tras la centrifugación, las células en pellet se vuelven a suspender, se mezclan y se transfieren a una **BD** Settling Chamber (cámara de sedimentación) montada en un **BD SurePath** PreCoat Slide (portaobjetos prerrevestido). Las células se sedimentan por gravedad y después se tiñen mediante un procedimiento de tinción de Papanicolau modificado. El portaobjetos se limpia con xileno o con un sustituto de xileno y se cubre. Las células, presentadas dentro de un círculo de 13 mm de diámetro, son examinadas a través de un microscopio por citotécnicos y patólogos cualificados con acceso a otros datos relevantes del historial del paciente.

*Nota: para realizar pruebas complementarias, puede retirarse una parte alícuota de hasta 0,5 mL después de efectuar este paso de mezcla con vórtex en portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

LIMITACIONES

- Las muestras ginecológicas para preparaciones realizadas con el sistema **BD PrepStain** se deben recoger con un dispositivo de muestreo de tipo escobilla o con una combinación de espátula de plástico/cepillo endocervical con cabezal desmontable según el procedimiento de recogida estándar indicado por el fabricante. Con el sistema **BD PrepStain**, no se deben utilizar espátulas de madera. Tampoco se deben utilizar con el sistema **BD PrepStain** combinaciones de espátula de plástico/cepillo endocervical que no sean desmontables.
- La formación impartida por personal autorizado constituye un requisito previo para la producción y evaluación de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Los citotécnicos y patólogos habrán sido instruidos en la evaluación morfológica con los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. La formación incluirá un examen de aptitud. Los laboratorios cliente recibirán juegos de pruebas y portaobjetos para su formación. BD Diagnostics también ofrecerá ayuda para la preparación de portaobjetos de formación con las poblaciones de pacientes de cada cliente.
- Para que el sistema **BD PrepStain** funcione correctamente, solo se deben utilizar con él los productos admitidos o recomendados por BD Diagnostics. Los productos utilizados se deben desechar correctamente de acuerdo con las regulaciones institucionales y gubernamentales.
- Todos los productos son de un solo uso y no se pueden reutilizar.
- En el caso de los portaobjetos **BD SurePath** Liquid-based Pap Test se necesita un volumen de 8,0 ± 0,5 mL de la muestra recogida en el **BD SurePath** Collection Vial.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Las muestras citológicas pueden contener agentes infecciosos. Utilice gafas, máscara, ropa y guantes de protección adecuados. Adopte las precauciones adecuadas para evitar riesgos biológicos al manipular las muestras.

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

Atención

H226 Líquidos y vapores inflamables.

P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. **P280** Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. **P303+P361+P353** EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ducharse. **P403+P235** Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

BD Density Reagent contiene azida sódica. No ingerir.

Atención

H302 Nocivo en caso de ingestión.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P301+P312** EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

BD EA/OG Combo Stain (tinte combinado) contiene etanol, metanol y ácido acético. No ingerir.

Peligro

H225 Líquido y vapores muy inflamables. **H312+H332** Nocivo en contacto con la piel o si se inhala. **H370** Provoca daños en los órganos.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación. **P280** Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. **P312** Llamar a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico en caso de malestar. **P403+P235** Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. **P501** Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Solo para uso profesional.
- Se deben seguir las prácticas de laboratorio recomendadas y se deben cumplir estrictamente todos los procedimientos de uso del sistema **BD PrepStain**.
- Los reactivos deberán guardarse a temperatura ambiente (15 – 30 °C) y utilizarse antes de su fecha de caducidad para garantizar unos resultados adecuados. El límite de conservación del **BD SurePath** Preservative Fluid sin muestras citológicas es de 36 meses desde la fecha de fabricación a temperatura ambiente (15 – 30 °C). El límite de conservación del **BD SurePath** Preservative Fluid con muestras citológicas refrigeradas (2 – 10 °C) es de 6 meses o de 4 semanas a temperatura ambiente (15 – 30 °C). El **BD SurePath** Preservative Fluid con muestra citológica para uso con **BD ProbeTec** CT Q^x y GC Q^x Amplified DNA Assays se puede almacenar y transportar durante un máximo de 30 días a temperatura de 2 a 30 °C antes de transferirlo a los tubos de dilución de muestras de citología en base líquida (LBC) para análisis de ADN amplificado **BD ProbeTec** Q^x.
- Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles. Los usuarios deben utilizar una protección adecuada para las manos, los ojos y la ropa.
- El poder bactericida del **BD SurePath** Preservative Fluid (líquido conservante) ha sido probado contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* y *Aspergillus niger*, y su eficacia ha quedado demostrada. Las muestras tratadas con **BD SurePath** Preservative Fluid e inoculadas con 10^6 CFU/mL de cada especie no presentaron ningún crecimiento después de 14 días (28 días en el caso de *Mycobacterium tuberculosis*) de incubación en condiciones estándar. No obstante, deberán adoptarse en todo momento las precauciones universales para la manipulación segura de fluidos biológicos.
- Si no se siguen los procedimientos recomendados descritos en el manual del usuario del sistema **BD PrepStain**, el rendimiento podría verse afectado.

RETIRADA OPCIONAL DE ALÍCUOTA

- Se dispone de volumen suficiente en el **BD SurePath** 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 **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (citología vaginal en base líquida), y quedará suficiente volumen para realizar dicha prueba.
- Aunque no existen pruebas de que la retirada de una alícuota del **BD SurePath** Collection Vial 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 son coherentes con el historial clínico del paciente. Además, la citología aborda aspectos clínicos diferentes a las pruebas de las enfermedades de transmisión sexual (ETS); por lo tanto, la extracción de una alícuota podría no estar indicada para todas las situaciones clínicas. Si fuera necesario, puede recogerse una muestra diferente para la prueba de ETS en lugar de tomar una alícuota del **BD SurePath** Collection Vial.
- La retirada de una alícuota de muestras con bajo nivel de celularidad puede dejar material insuficiente en el **BD SurePath** Collection Vial para la preparación de un **BD SurePath** Liquid-based Pap Test satisfactorio.
- La alícuota se debe retirar antes de procesar el **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Solo se puede retirar una alícuota del **BD SurePath** Collection Vial antes de realizar el **BD SurePath** Liquid-based PapTest, con independencia del volumen de la alícuota.

Procedimiento

1. Para garantizar una mezcla homogénea, el **BD SurePath** Collection Vial se debe mezclar con vórtex durante 10 a 20 segundos y la alícuota de 0,5 mL se debe retirar en el plazo de un minuto tras la mezcla con vórtex.
2. Para la retirada de la alícuota se debe utilizar una punta de pipeta de polipropileno resistente a aerosoles con el tamaño adecuado para el volumen que se esté retirando. *Nota:* no se deben utilizar pipetas serológicas. Se deben seguir las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la introducción de contaminantes en el **BD SurePath** Collection Vial o la alícuota. La retirada de la alícuota se debe llevar a cabo en una ubicación adecuada, fuera del área en la que se realice la amplificación.
3. Compruebe visualmente el material de la alícuota en la pipeta por si existieran partículas de gran tamaño o semisólidas. Si se detecta dicho material al retirar la parte alícuota, se debe devolver todo el material al vial de muestra y descartar la muestra para las pruebas complementarias antes de realizar la prueba de Papanicolau.
4. Para obtener instrucciones sobre el procesamiento de la alícuota con el análisis **BD ProbeTec** CT Q^x y GC Q^x Amplified DNA Assays (análisis de ADN amplificado), consulte los folletos de la caja suministrados por el fabricante.

CONSERVACIÓN

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

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

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

MATERIALES NECESARIOS

Consulte el manual del usuario de **BD PrepStain** Slide Processor (procesador de portaobjetos) para obtener más información sobre los reactivos, los componentes y los accesorios. No todos los materiales que figuran a continuación son necesarios para la preparación manual de **BD SurePath** Slides (portaobjetos) (sin usar el **BD PrepStain** Slide Processor).

Materiales suministrados

- **BD PrepStain** Slide Processor
- **BD SurePath** Collection Vial (incluye líquido conservante **BD SurePath**)
- Dispositivo(s) de muestreo cervical con cabezal(es) desmontable(s)
- **BD** Density Reagent
- **BD** Syringing Pipettes (pipetas para dispensar)
- **BD** Settling Chambers (cámaras de sedimentación)
- **BD** Cytology Stain Kit
- **BD SurePath** PreCoat Slides (portaobjetos prerrevestidos)
- **BD** Centrifuge Tubes
- Gradillas de tubos y portaobjetos
- **BD PrepStain** Transfer Tips (puntas de transferencia)
- **BD** Aspirator Tips (puntas del aspirador)

Materiales necesarios pero no suministrados

- Mezclador vórtex
- Agua desionizada (pH de 7,5 a 8,5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse o isopropanol y alcohol reactivo
- Agente de limpieza, medios de montaje y cubreobjetos de vidrio

INTERPRETACIÓN DEL DIAGNÓSTICO E IDONEIDAD DE LA PREPARACIÓN

Una vez finalizada la formación del usuario autorizado por BD Diagnostics sobre el sistema **BD PrepStain** y los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, deberán aplicarse a los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test los criterios de diagnóstico citológico de *The Bethesda System* actualmente utilizados en laboratorios citológicos para citologías vaginales convencionales[1]. Las directrices recomendadas en el sistema de notificación Bethesda 2001 se refieren a las preparaciones en base líquida y establecen la forma de determinar la celularidad adecuada específicamente para estas preparaciones.

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

(1) Un número inadecuado de células de diagnóstico (menos de 5.000 células epiteliales escamosas por preparación). A continuación, se indican los procedimientos recomendados para calcular el número de células epiteliales escamosas bien conservadas en los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test:

- Para cada modelo de microscopio utilizado en el cribado, consulte el manual del fabricante del microscopio o póngase en contacto con él para determinar el área del campo de visión que obtendrá con la lente elegida y el objetivo de 40x. También puede calcular el área del campo con un hemocitómetro o una escala de medición de portaobjetos similar (área de campo = πr^2, donde r es el radio del campo).
- El promedio mínimo de células que caben en el campo de un objetivo de 40x se determina dividiendo el área ocupada por las células (130 mm^2 aproximadamente) en el portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test por el área del campo del microscopio utilizado. A continuación, se divide el resultado por el valor mínimo de 5.000 células. El número resultante será el promedio idóneo mínimo recomendado de células epiteliales que debe haber en un campo de visión de un objetivo de 40x. Anote este número y guárdelo como referencia para el uso rutinario del citotécnico. Las directrices del sistema Bethesda 2001 indican el número aproximado de células por campo para una preparación de 13 mm.
- Se debe contabilizar un mínimo de diez campos horizontal o verticalmente a lo largo del centro del diámetro de la preparación.

- Como medio práctico para evaluar la celularidad, se puede utilizar una evaluación macroscópica de la densidad visual de la preparación teñida para comprobar la idoneidad de las ejecuciones de producción de la preparación. Sin embargo, este proceso no puede sustituir a la evaluación microscópica principal llevada a cabo por el citotécnico durante el proceso de cribado.

(2) El 75% o más de los componentes celulares están camuflados por inflamaciones, sangre, bacterias, mucosidades o artefactos que impiden la interpretación citológica del portaobjetos.

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

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO: INFORME DE ESTUDIOS CLÍNICOS

Primer estudio de muestras divididas

BD Diagnostics (antes conocido como TriPath Imaging) llevó a cabo un estudio clínico ciego prospectivo con muestras divididas y emparejadas en varios centros con el fin de comparar los resultados diagnósticos de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (portaobjetos) producidos por el sistema **BD PrepStain** con las citologías vaginales preparadas de manera convencional. Este estudio tenía como objetivo evaluar el rendimiento del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (citología vaginal en base líquida) en comparación con las citologías vaginales convencionales para la detección de cáncer de cuello uterino, lesiones precursoras y células atípicas en diversas poblaciones de pacientes y distintos entornos de laboratorio. También se evaluó la idoneidad de ambas preparaciones.

Siguiendo las recomendaciones citadas en el documento “Points to Consider” de la FDA en relación con los dispositivos para citología cervical[10], después de preparar cada citología vaginal, la muestra residual que quedaba en el dispositivo de muestreo de tipo escobilla se depositó en un **BD SurePath** Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante).

Tras su transporte al laboratorio, cada suspensión celular conservada se procesó según el protocolo del sistema **BD PrepStain**. El portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test resultante y el portaobjetos con la citología vaginal convencional coincidente se analizaron manualmente y se diagnosticaron de forma independiente empleando clasificaciones de diagnóstico coherentes con The Bethesda System. En cada centro, un patólogo evaluó todos los portaobjetos anormales.

Siguiendo el método descrito por Shatzkin[11], en este estudio, un patólogo de referencia independiente de un centro de referencia designado revisó todos los casos anormales y discrepantes, los casos ajustados y el 5% de los casos normales de todos los centros. El estudio se realizó de forma ciega para obtener la “verdad” diagnóstica de cada caso.

Características de las pacientes

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

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

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

Resultados del estudio

El estudio clínico tenía por objetivo comparar el rendimiento de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test producidos con el sistema **BD PrepStain** con el de las citologías vaginales preparadas de manera convencional. Los portaobjetos de ambos tipos de preparación se clasificaron según los criterios de The Bethesda System. El protocolo del estudio se inclinaba a favor de la citología vaginal convencional, debido a que esta muestra siempre se preparaba en primer lugar, limitando así el portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test al material residual que quedaba en el dispositivo de tipo escobilla (la parte de la muestra que normalmente se habría eliminado)[12]. El uso previsto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (citología vaginal en base líquida) es una aplicación de tipo “directo al vial” en la que el sistema **BD PrepStain** podrá utilizar todas las células obtenidas.

Para poder comparar la sensibilidad de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test y de los portaobjetos preparados con la citología vaginal convencional cuando se leen manualmente, el patólogo de referencia determinó el grado de anormalidad de los casos y los comparó con los diagnósticos realizados por los centros que participaron en el estudio. El diagnóstico de referencia estaba basado en el diagnóstico más anormal de las dos preparaciones de portaobjetos, obtenido por el patólogo de referencia independiente. Este resultado se utilizó como diagnóstico “verdadero” o valor de referencia para comparar los resultados de los centros que usaron la preparación de portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test y el sistema **BD PrepStain** con la preparación de citologías vaginales convencionales. La hipótesis nula de que la sensibilidad de ambos métodos de preparación de portaobjetos es equivalente fue valorada mediante la prueba de chi cuadrado de McNemar para datos emparejados[13]. En esta prueba estadística, se compararon los resultados discrepantes de los dos métodos de preparación.

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

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

Resultados por centro

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

SP = **BD SurePath**
CN = Convencional

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

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

Citología vaginal preparada de forma convencional

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
BD SurePath preparado con BD PrepStain	**WNL**	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	**7.768**	**531**	**39**	**271**	**177**	**21**	**8.807**

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

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	113	205	318
	Error	180	229	409
		293	434	727

Éxito = ASCUS/AGUS
Error = WNL y Reactivo/Reparativo
Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 1,62, p = 0,2026
Errores con el método convencional: 205
Errores con BD SurePath: 180

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

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	140	63	203
	Error	54	86	140
		194	149	343

Éxito = LSIL
Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS
Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 0,69, p = 0,4054
Errores con el método convencional: 63
Errores con BD SurePath: 54

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

Tabla 5 Primer estudio de muestras divididas: comparación de los resultados de todos los centros para casos designados por el método de referencia como HSIL+ – Análisis de errores discrepantes (LSIL no es un error)

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	160	28	188
	Error	36	38	74
		196	66	262

Éxito = HSIL+
Error = WNL, Reactivo/Reparativo y ASCUS/AGUS
Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 1,00, p = 0,3173
Errores con el método convencional: 28
Errores con BD SurePath: 36

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

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	19	2	21
	Error	5	1	6
		24	3	27

Éxito = Cáncer
Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL
Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 1,645, p = 0,1980
Errores con el método convencional: 2
Errores con BD SurePath: 5

En la tabla 6, se muestran los resultados (de todos los centros) de los casos valorados como cáncer por el método de referencia. Entre los errores se incluyen WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. El análisis de sensibilidad de los errores discrepantes mostró una equivalencia estadística de los métodos empleados. Estos 27 casos de cáncer se incluyeron en el estudio de reevaluación. Estos datos aparecen en la tabla 9.

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	94	33	127
	Error	67	68	135
		161	101	262

Éxito = (HSIL+)
Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL
Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 11,56, p = 0,0007
Errores con el método convencional: 33
Errores con BD SurePath: 67

En la tabla 7, se muestran los resultados de los casos identificados por el patólogo de referencia como HSIL+. Entre los errores se incluyen WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL. Aunque no era coherente con el protocolo del estudio original[10], se realizó una comparación estadística de los métodos en los que LSIL se consideró como un error de diagnóstico frente a un caso determinado como HSIL+ por el único patólogo de referencia independiente. En esta comparación estadística de sensibilidades de diagnóstico, cuando LSIL se considera como error y no como una discrepancia leve, los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparados con el sistema **BD PrepStain** no son equivalentes a las citologías vaginales preparadas con los métodos convencionales para la detección de anormalidades de HSIL+ en el estudio de muestras divididas.

REEVALUACIÓN CIEGA DE CASOS DE HSIL+

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

En el proceso de referencia para la reevaluación, ambas preparaciones de portaobjetos con muestras de los casos discrepantes (portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparados con el sistema **BD PrepStain** y portaobjetos preparados de manera convencional) fueron estudiadas de nuevo por un segundo citotécnico y se detectaron nuevas anormalidades aparte de las que ya habían sido detectadas en el estudio inicial. Todos los casos discrepantes fueron evaluados por tres citopatólogos de referencia a través de un protocolo ciego. Este método de referencia más estricto redujo el número de casos de referencia de HSIL+ de 262 en el estudio original a 209 en la reevaluación. La diferencia de 53 casos se justifica de la siguiente manera: el método de referencia más estricto diagnosticó 48 casos como LSIL o menos graves, la idoneidad de 3 casos se consideró como no satisfactoria durante la reevaluación y los 2 casos restantes no estaban disponibles para su valoración en el estudio de reevaluación ciega.

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	153	26	179
	Error	24	6	30
		177	32	209

Éxito = HSIL+
Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL
Resultado de la prueba de McNemar: **X^2 mc = 0,02, p = 0,8875**
Errores con el método convencional: **26**
Errores con BD SurePath: **24**

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

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	32	3	35
	Error	3	0	3
		35	3	38

Éxito = Cáncer
Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL
Resultado de la prueba de McNemar: **X^2 mc = 0,00, p = 1,0000**
Errores con el método convencional: **3**
Errores con BD SurePath: **3**

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

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

Tabla 10 Estudio de reevaluación: comparación directa de los 2.097 resultados obtenidos en los centros – Sin patólogo de referencia

Citología vaginal preparada de forma convencional

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

De los 2.097 nuevos casos anteriormente descritos, 77 fueron diagnosticados como HSIL+ por los patólogos de referencia. En la tabla 11, se muestra el análisis de sensibilidad de los 77 casos de HSIL+.

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

Portaobjetos preparado de forma convencional

		Éxito	Error	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	**Éxito**	25	21	46
	Error	21	10	31
		46	31	77

Éxito = HSIL+
Error = WNL, Reactivo/Reparativo, ASCUS/AGUS y LSIL
Resultado de la prueba de McNemar: **X^2 mc = 0,00, p = 1,0000**
Errores con el método convencional: **21**
Errores con BD SurePath: **21**

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

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

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

Diagnósticos descriptivos (nº de pacientes: 8.807)	**Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain**		**Portaobjetos preparado de forma convencional**	
	N	%	N	%
Cambios celulares benignos * Infección:				
Especies de *Candida*	440	5,0	445	5,1
Trichomonas vaginalis	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Especies de *Actinomyces*	6	0,1	2	<0,1
Bacterias (otros)	52	0,6	191	2,2
** Cambios reactivos/reparativos	424	4,8	319	3.6

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

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

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

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

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

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

Nota: *algunas pacientes presentaron más de una subcategoría.*

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

En la tabla 14, se muestran los resultados de la comparación de la idoneidad de ambos métodos de preparación. Se detectó un número considerablemente inferior de casos No satisfactorios y SBLB con los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test en comparación con los portaobjetos convencionales.

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

		Portaobjetos preparado de forma convencional			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2.489	89	9.046

UNSAT: Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 9,33, p = 0,0023

SBLB: Resultado de la prueba de McNemar: X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

En la tabla 15, se muestra una comparación entre las preparaciones satisfactorias y no satisfactorias obtenidas en las evaluaciones, tanto en los centros que participaron en el estudio como en el centro de referencia. Los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test muestran una reducción estadísticamente importante de casos no satisfactorios en comparación con los portaobjetos convencionales.

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

		Portaobjetos preparado de forma convencional		
		SAT	UNSAT	
Portaobjetos de BD SurePath Pap Test preparado con BD PrepStain	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

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

Tabla 16 Resultados de la idoneidad de las preparaciones por centros – Índices de SBLB para ECC (falta de componentes endocervicales)

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

La detección de las células endocervicales (tabla 16) varió en los diferentes centros que participaron en el estudio. En términos generales, se observó una diferencia del 1,8% en la detección de células endocervicales entre la citología vaginal convencional y el método **BD SurePath**, que resulta similar a los estudios anteriores realizados con el método de células divididas[16,17].

Los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test producidos con el sistema **BD PrepStain** proporcionan resultados similares a las citologías vaginales convencionales en comparaciones de muestras divididas en diferentes poblaciones de pacientes y entornos de laboratorio. Además, se detectó un número considerablemente inferior de casos No satisfactorios y SBLB con los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test en comparación con las citologías vaginales convencionales. Así pues, el portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test se puede utilizar como sustituto de la citología vaginal convencional en la detección de células atípicas, lesiones precursoras, cáncer del cuello uterino y todas las demás categorías citológicas definidas por The Bethesda System.

EVALUACIÓN DE LA PREPARACIÓN DE PORTAOBJETOS DE BD SUREPATH LIQUID-BASED PAP TEST CON BD PREPMATE Y MÉTODOS MANUALES BD SUREPATH

BD Diagnostics (antes conocido como TriPath Imaging) llevó a cabo estudios clínicos prospectivos en varios centros para evaluar dos modificaciones en el método aprobado por la FDA para preparar portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Se realizaron las siguientes modificaciones en el proceso aprobado para preparar portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test:

- Incorporación del **BD PrepMate** Automated Accessory (accesorio automatizado) (método **BD PrepMate**), que automatiza los pasos manuales iniciales del proceso de laboratorio del **BD PrepStain**. El método **BD PrepMate** mezcla y retira automáticamente la muestra de los **BD SurePath** Collection Vials (viales de recogida con líquido conservante) y la deposita en **BD** Density Reagent (reactivo de densidad) en una probeta.
- Incorporación del método manual **BD SurePath**, en el cual, en lugar de utilizar el **BD PrepStain** Slide Processor (procesador de portaobjetos) para la suspensión de las células y la tinción del portaobjetos, la suspensión se deposita manualmente sobre el portaobjetos y la tinción es efectuada por un técnico de laboratorio.

Este estudio evaluó más de 400 casos en una comparación ciega de los dos métodos que se presentaban como alternativas al procedimiento aprobado actualmente para la preparación de portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. La comparación se basó en los criterios morfológicos y de calidad aplicados a los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos.

Objetivos principales del estudio:

- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparados con el método **BD PrepMate**, en comparación con los portaobjetos preparados con el método aprobado consistente en utilizar el sistema **BD PrepStain** (conocido como método **BD PrepStain**).
- Evaluar los aspectos morfológicos y de calidad de los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparados con el método manual **BD SurePath**, en comparación con los portaobjetos preparados con el método **BD PrepStain** aprobado.

Otros objetivos del estudio:

- Determinar si el grado de concordancia entre el método **BD PrepStain** aprobado y el método **BD PrepMate** era superior a lo que cabría esperar.
- Determinar si el grado de concordancia entre el método **BD PrepStain** aprobado y el método manual **BD SurePath** era superior a lo que sería atribuible al azar.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del sistema **BD PrepStain** para la preparación de portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test con el método **BD PrepMate**.
- Evaluar la idoneidad de las muestras según los estándares del sistema **BD PrepStain** para la preparación de portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test con el método manual **BD SurePath**.

BD PREPMATE AUTOMATED ACCESSORY

El instrumento **BD PrepMate** es un accesorio para el sistema **BD PrepStain** que automatiza dos pasos manuales: la mezcla de la muestra y su disposición en una capa en el proceso de laboratorio del **BD PrepStain**. El **BD PrepMate** mezcla la muestra a conciencia, la retira con precisión de los **BD SurePath** Collection Vials (viales de recogida con líquido conservante) y la deposita en **BD** Density Reagent (reactivo de densidad) en una probeta. Se coloca una gradilla de muestras precargada con viales de recogida, pipetas para dispensar y probetas (con **BD** Density Reagent) en la bandeja del instrumento. La gradilla admite hasta doce viales, probetas y pipetas para dispensar organizados en tres filas de cuatro unidades. Los viales, las pipetas para dispensar y las probetas son desechables y se deben utilizar una única vez para evitar el riesgo de contaminación de las muestras.

MÉTODO MANUAL BD SUREPATH

El método manual **BD SurePath** emplea un procedimiento manual para depositar la suspensión de células en los portaobjetos y teñir la preparación. Los pasos de recogida y procesamiento de las muestras ginecológicas son idénticos para el método manual y para el método **BD PrepStain** aprobado, hasta la fase en la que se utiliza el **BD PrepStain** Slide Processor (procesador de portaobjetos).

Con el método **BD PrepStain**, los pellets de células centrifugados se colocan directamente en el **BD PrepStain** Slide Processor para su procesamiento automatizado con el fin de obtener portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test teñidos.

Con el método manual **BD SurePath**, se añade agua desionizada al pellet de células centrifugado y luego se mezcla con vórtex para volver a suspender y aleatorizar la muestra. La muestra se transfiere a una **BD** Settling Chamber (cámara de sedimentación) montada en un **BD SurePath** PreCoat Slide (portaobjeto prerrevestido). Una vez que la muestra se haya estabilizado en el portaobjetos, se teñirá siguiendo un procedimiento de Papanicolau de tinción de lotes.

RECUENTO DE PORTAOBJETOS

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

Tabla 17 Recuento de portaobjetos

	Casos	Portaobjetos
Número total de reclutados para el estudio	**471**	**1.413**
Número total de excluidos del análisis	**–68**	**–204**
Documentación incompleta	–39	–117
Portaobjetos preparados de forma incorrecta	–24	–72
Otros motivos de exclusión*	–5	–15
Número total de incluidos en el análisis	**403**	**1.209**

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

DATOS DEMOGRÁFICOS DE LA POBLACIÓN

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

Tabla 18 Datos demográficos de pacientes

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

En la tabla 19, se muestra la información clínica actual y, en la tabla 20, el historial clínico de todos los casos incluidos en la población estudiada. Se debe tener en cuenta que se permitió seleccionar más de un elemento, por lo que es posible que el recuento total de casos no guarde correlación con el número total de casos incluidos en la población estudiada.

Tabla 19 Información clínica actual

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

Tabla 20 Historial clínico

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

* Ligadura bilateral de trompas

** Enfermedad pélvica inflamatoria

RESULTADOS DEL ESTUDIO

Este estudio tenía por objetivo establecer que los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparados con los procedimientos del método **BD PrepMate** y del método manual **BD SurePath** ofrecían unos resultados favorables comparados con los de los portaobjetos preparados con el método **BD PrepStain** aprobado. Los datos clínicos muestran que los portaobjetos preparados con el método **BD PrepMate** y con el método manual **BD SurePath** ofrecían unos resultados comparables, en cuanto a morfología y calidad, a los de los portaobjetos preparados con el método **BD PrepStain** aprobado.

Los datos clínicos también muestran que el método **BD PrepMate** y el método manual **BD SurePath** ofrecen un rendimiento diagnóstico equiparable al del método **BD PrepStain** aprobado. Además, no existe diferencia entre la idoneidad de los portaobjetos preparados con el método **BD PrepMate** y con el método manual **BD SurePath** y la de los portaobjetos preparados con el método **BD PrepStain** aprobado. Estos hallazgos respaldan la equiparabilidad del método **BD PrepMate** y el método manual **BD SurePath** con el método **BD PrepStain** aprobado.

MORFOLOGÍA Y CALIDAD DE LAS MUESTRAS

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

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

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

Los índices de aceptabilidad del método **BD PrepMate** y del método manual **BD SurePath** son casi siempre iguales o superiores a los del método **BD PrepStain**. Además, los intervalos de confianza del 95% exactos correspondientes al método **BD PrepMate** y al método manual **BD SurePath** se solapan en gran medida con los del método **BD PrepStain** aprobado en cada uno de los criterios. Esto implica que los portaobjetos preparados con el método **BD PrepMate** y con el método manual **BD SurePath** ofrecen una morfología y una calidad comparables a las de los portaobjetos preparados con el método **BD PrepStain** aprobado. Así pues, la calidad de la preparación es la misma tanto en el método aprobado como en los otros dos métodos de prueba.

CONCORDANCIA ENTRE DIAGNÓSTICOS

Este análisis compara los diagnósticos de los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos. Debido a que estos datos fueron obtenidos a partir de muestras divididas, las matrices de diagnóstico que se muestran en las tablas 22 y 23 están basadas en la comparación de las muestras emparejadas preparadas con cada uno de los métodos (**BD PrepMate** y método manual **BD SurePath**) con las del método **BD PrepStain** aprobado. Se espera que el diagnóstico obtenido de los portaobjetos preparados con ambos métodos sea el mismo. Esto queda reflejado por el número de portaobjetos con diagnósticos idénticos, que se muestra en la diagonal principal de cada tabla.

El primer indicador de concordancia es la proporción de portaobjetos en la diagonal principal y los intervalos de confianza del 95% exactos correspondientes. El segundo indicador de concordancia se obtiene de la estadística kappa, que se calculó y probó para cada comparación. La prueba determina si el grado de concordancia entre ambos métodos era superior a lo que sería atribuible al azar. Dado que las observaciones están ordenadas, resulta más importante contar con observaciones que se encuentren en la diagonal principal o cerca de esta. La estadística kappa ponderada otorga mayor peso a las observaciones que se encuentran en la diagonal principal de las tablas o cerca de ella.

COMPARACIÓN DEL MÉTODO BD PREPSTAIN APROBADO CON EL MÉTODO BD PREPMATE

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

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

Los resultados mostrados en la tabla 22 indican que el método **BD PrepStain** aprobado y el método **BD PrepMate** cuentan con una elevada proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según se desprende de la proporción de portaobjetos de la diagonal principal de la tabla. Además, el análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mucho mayor de lo que sería atribuible al azar.

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

		Diagnóstico con el método BD PrepStain									
		Resultados no satisfactorios	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico con el método BD PrepMate	Resultados no satisfactorios	2	1	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	2	334	2	7	2	0	0	0	0	347
	BCC-RR	0	6	8	0	1	0	0	0	0	15
	Atipia	1	3	2	6	0	0	0	0	0	12
	LSIL	0	3	0	3	5	0	0	0	0	11
	HSIL	0	1	0	1	0	11	0	0	0	13
	DYSPL	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

COMPARACIÓN DEL MÉTODO BD PREPSTAIN APROBADO CON EL MÉTODO MANUAL BD SUREPATH

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

Si se borran la primera fila y la primera columna para excluir los portaobjetos no satisfactorios de la tabla, quedan 398 portaobjetos. La proporción de portaobjetos en la diagonal principal es de 0,8794 (350/398) con límites de confianza del 95% entre 0,8433 y 0,9097. Los resultados indicados en la tabla 23 muestran que el método **BD PrepStain** aprobado y el método manual **BD SurePath** cuentan con una elevada proporción de portaobjetos con concordancia diagnóstica, según se desprende de la proporción de portaobjetos en la diagonal principal de la tabla. Además, el análisis del índice kappa ponderado indica que la concordancia es mucho mayor de lo que sería atribuible al azar. Así pues, los resultados diagnósticos son los mismos tanto en el método aprobado como en los otros dos métodos de prueba.

Tabla 23 Tabulación cruzada de diagnósticos obtenidos con el método **BD PrepStain** y con el método manual **BD SurePath**

		Diagnóstico con el método BD PrepStain									
		Resultados no satisfactorios	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico con el método manual	Resultados no satisfactorios	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atipia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

IDONEIDAD DE LOS PORTAOBJETOS

Se evaluó la idoneidad de los portaobjetos preparados con cada uno de los métodos. Los datos se analizaron con la prueba McNemar de doble banda[18].

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

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

		Resultados con el método BD PrepStain		
		SAT o SBLB	UNSAT	
Resultados con el método BD PrepMate	SAT o SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

En la tabla 25, se muestran los resultados de idoneidad obtenidos al comparar el método **BD PrepStain** aprobado con el método manual **BD SurePath**.

Tabla 25 Resultados de idoneidad para portaobjetos preparados con el método manual **BD SurePath** y con el método **BD PrepStain**

		Resultados con el método BD PrepStain		
		SAT o SBLB	**UNSAT**	
Resultados con el método manual BD SurePath	**SAT o SBLB**	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

En estas dos comparaciones, se demuestra que el método **BD PrepMate** y el método manual **BD SurePath** no se diferencian del método **BD PrepStain** aprobado en cuanto a la idoneidad de los portaobjetos.

ESTUDIO DEL MÉTODO "DIRECTO AL VIAL"

Después de la aprobación inicial del sistema **BD PrepStain** por parte de la FDA, BD Diagnostics (antes conocido como TriPath Imaging) llevó a cabo un importante estudio de este sistema con la participación de varios centros para determinar sus resultados cuando se utiliza para muestras con el método "directo al vial". En los estudios clínicos anteriores, se había empleado un método de muestras divididas en el que la muestra se utilizaba primero para crear un portaobjetos de citología vaginal convencional y el resto de la muestra se depositaba en el **BD SurePath** Collection Vial (vial de recogida con líquido conservante) y se procesaba con el sistema **BD PrepStain** para crear un portaobjeto del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Está demostrado que los estudios de muestras divididas subestiman los resultados reales de la prueba que se prepara con el material celular residual[12].

En este estudio, se compararon los resultados obtenidos con los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test creados con muestras de tipo "directo a vial" con los de las citologías vaginales convencionales. Los resultados obtenidos con los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test se compararon con los obtenidos con un grupo anterior de citologías vaginales convencionales. En concreto, este estudio evaluó si los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test mejoraban la detección de lesiones intraepiteliales escamosas de alto grado (HSIL), adenocarcinoma *in-situ* y cáncer (HSIL+). Se recopilaron todos los datos de biopsia disponibles para ambos grupos de portaobjetos.

La población **BD SurePath** estaba integrada por 58.580 portaobjetos procedentes de 57 clínicas que habían convertido casi el 100% de sus obtenciones con el método de recogida de muestras de citología vaginal convencional al método **BD SurePath**. Las muestras obtenidas en estas clínicas se enviaron a tres centros para su procesamiento.

La población convencional estaba constituida por 58.988 portaobjetos procedentes de las mismas clínicas que los portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Esta población histórica se obtuvo empezando por los portaobjetos más recientes antes de la conversión de las clínicas al **BD SurePath** Liquid-based Pap Test y después, retrocediendo en el tiempo hasta obtener una población de portaobjetos convencionales y portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test aproximadamente del mismo número en cada clínica.

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

Tabla 26 Comparación de los índices de detección según los centros

HSIL+

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

LSIL+

Centro	Convencional			BD SurePath		
	Total	**LSIL+**	**Porcentaje (%)**	**Total**	**LSIL+**	**Porcentaje (%)**
1	41.274	765	1,853	40.735	1.501	3,685
2	10.421	96	0,921	10.676	347	3,250
3	7.293	99	1,357	7.169	127	1,772
Total	58.988	960	1,627	58.580	1.975	3,371

ASCUS+

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

No satisfactorios

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

Nota: *se esperan variaciones de rendimiento entre los distintos centros. Cada laboratorio debe controlar minuciosamente la calidad de su trabajo.*

PROCEDIMIENTO

Los procedimientos completos para preparar portaobjetos del **BD SurePath** Liquid-based Pap Test se proporcionan en el manual del usuario del **BD PrepStain** Slide Processor.

REFERENCIAS: Véase la sección "References" en el texto inglés.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.

BD PrepStain System

IVD CE

REF 491313	**BD PrepMate** Consumables Kit (kit de consumíveis)
REF 491311	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit de consumíveis)
REF 491312	**BD PrepStain** Consumables Kit (kit de consumíveis) – Japão

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O **BD PrepStain** System (anteriormente designado AutoCyte PREP System) é um processo de preparação de células em camada fina de base líquida. O **BD PrepStain** System produz lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test que se destinam a substituir os esfregaços citológicos de ginecologia convencionais. As lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test (anteriormente designadas AutoCyte PREP) destinam-se a ser utilizadas no rastreio e detecção de cancro cervical, lesões pré-cancerosas, células atípicas e todas as outras categorias citológicas definidas pelo Bethesda System for Reporting Cervical/Vaginal Cytologic Diagnoses (sistema para notificação de diagnóstico citológico de alterações cervico-vaginais).[1]

O **BD SurePath** Preservative Fluid constitui um meio de colheita e transporte adequado a amostras ginecológicas testadas nos testes de ADN amplificado **BD ProbeTec** *Chlamydia trachomatis* (CT) Q^x e *Neisseria gonorrhoeae* (GC) Q^x Amplified DNA Assay. Consulte os folhetos informativos dos testes para obter instruções sobre a utilização do **BD SurePath** Preservative Fluid na preparação de amostras para utilização com estes testes.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

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

O processo **BD SurePath** inicia-se com a utilização, pelo pessoal médico qualificado, de um dispositivo de amostragem do tipo escova (p. ex., Rovers Cervex-Brush, Rovers Medical Devices B.V., Oss - Países Baixos) ou uma combinação escova/espátula de plástico endocervical (p. ex., Cytobrush Plus GT e espátula Pap Perfect, CooperSurgical Inc., Trumbull, CT) com cabeça(s) amovível, para colheita de uma amostra ginecológica. Em vez de espalhar as células colhidas pelos dispositivos de amostragem numa lâmina de vidro, as cabeças dos dispositivos de amostragem são destacadas do cabo e colocadas num frasco de conservante **BD SurePath** Preservative Fluid. O frasco é tapado, etiquetado e enviado com os documentos necessários para processamento no laboratório. As cabeças dos dispositivos de amostragem nunca são removidas do frasco de conservante que contém a amostra colhida.

No laboratório, a amostra preservada é misturada por meio de vórtex* e depois transferida para o **BD** Density Reagent (reagente de densidade). Um passo de enriquecimento, que consiste na sedimentação centrífuga através do reagente **BD** Density Reagent, remove parcialmente da amostra os resíduos sem valor diagnóstico e as células inflamatórias em excesso. Após a centrifugação, as células agrupadas são novamente suspensas, misturadas e transferidas para uma câmara de incubação **BD** Settling Chamber montada numa lâmina pré-revestida **BD SurePath** PreCoat Slide. As células sedimentam por gravidade e depois são coradas utilizando um procedimento de coloração de Papanicolaou modificado. A lâmina é limpa com xilol ou com um substituto de xilol e protegida com uma lamela. As células, dispostas num círculo de 13 mm de diâmetro, são examinadas ao microscópio por técnicos de citologia e patologistas com a formação adequada e com acesso a outras informações relevantes acerca dos antecedentes clínicos da paciente.

*Nota: Para proceder a testes auxiliares, é possível remover até 0,5 mL de alíquota após a passagem pelo vórtex nas lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

LIMITAÇÕES

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

As amostras citológicas podem conter agentes infeciosos. Use vestuário de proteção, luvas e equipamento protetor para a vista/rosto adequados. Tome as precauções adequadas contra risco biológico ao manusear as amostras.

O conservante **BD SurePath** Preservative Fluid contém uma solução aquosa de etanol desnaturado. A mistura contém pequenas quantidades de metanol e isopropanol. Não ingerir.

Atenção

H226 Líquido e vapor inflamáveis.

P233 Manter o recipiente bem fechado. **P280** Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. **P303+P361+P353** SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche. **P403+P235** Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco. **P501** Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

O reagente **BD** Density Reagent contém azida de sódio. Não ingerir.

Atenção

H302 Nocivo por ingestão.

P264 Lavar cuidadosamente após manuseamento. **P301+P312** EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. **P501** Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

BD EA/OG Combo Stain (Coloração combinada) contém etanol, metanol e ácido acético. Não ingerir.

Perigo

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis. **H312+H332** Nocivo em contacto com a pele ou por inalação. **H370** Afecta os órgãos.

P264 Lavar cuidadosamente após manuseamento. **P280** Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. **P312** Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. **P403+P235** Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco. **P501** Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

PRECAUÇÕES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Apenas para utilização profissional.
- Devem ser adoptadas boas práticas laboratoriais e todos os procedimentos para utilização do **BD PrepStain** System devem ser rigorosamente respeitados.
- Os reagentes devem ser conservados à temperatura ambiente (15 – 30 °C) e utilizados antes do final do prazo de validade para garantir um desempenho adequado. A condição de conservação do **BD SurePath** Preservative Fluid sem amostras citológicas é de 36 meses, a contar da data de fabrico, à temperatura ambiente (15 – 30 °C). O limite de conservação do **BD SurePath** Preservative Fluid com amostras citológicas é de 6 meses refrigerado (2 – 10 °C) ou 4 semanas à temperatura ambiente (15 – 30 °C). O **BD SurePath** Preservative Fluid que contém uma amostra citológica destinada a utilização com os testes **BD ProbeTec** CT Q^x and GC Q^x Amplified DNA Assays pode ser conservado e transportado durante um máximo de 30 dias a temperaturas entre 2 e 30 °C antes de ser transferido para os tubos Liquid-Based Cytology Specimen (LBC) Dilution Tubes (tubos de diluição de amostras citológicas de base líquida) para os testes **BD ProbeTec** Q^x Amplified DNA Assays.
- Evite salpicar ou gerar aerossóis. Os operadores devem utilizar equipamento protector adequado para as mãos, olhos e vestuário.
- O conservante **BD SurePath** Preservative Fluid foi testado a nível da sua eficácia antimicrobiana contra: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Mycobacterium tuberculosis* e *Aspergillus niger* e revelou ser eficaz. As amostras de **BD SurePath** com conservante inoculadas com 10^6 CFU/mL de cada espécie não obtiveram qualquer crescimento após 14 dias (28 dias no caso da *Mycobacterium tuberculosis*) de incubação em condições padrão. Contudo, devem ser sempre adoptadas precauções universais para o manuseamento seguro de fluidos biológicos.
- O incumprimento dos procedimentos recomendados, tal como descritos no Manual de Utilizador do **BD PrepStain** System, pode comprometer o desempenho.

REMOÇÃO OPCIONAL DE ALÍQUOTAS

- O **BD SurePath** Collection Vial (Frasco de Colheita com Fluido Conservante) dispõe de um volume suficiente para permitir a remoção de até 0,5 mL de mistura homogénea de células e fluidos para testes auxiliares, que antecedem o processamento do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, ao mesmo tempo que o volume restante é suficiente para a execução do teste citológico.
- Não havendo evidência de que a remoção de uma alíquota a partir do frasco **BD SurePath** Collection Vial 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 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 distinta para testes de DST em vez de retirar uma alíquota do frasco **BD SurePath** Collection Vial.
- A remoção da alíquota de amostras de baixa celularidade poderá deixar material insuficiente no frasco **BD SurePath** Collection Vial para preparação de um **BD SurePath** Liquid-based Pap Test satisfatório.
- A alíquota deve ser removida antes de processar o **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Apenas uma alíquota pode ser removida do frasco **BD SurePath** Collection Vial antes de executar o **BD SurePath** Liquid-based PapTest, independentemente do volume da alíquota.

Procedimento

1. Para garantir uma mistura homogénea, o frasco **BD SurePath** Collection Vial 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 **BD SurePath** Collection Vial ou na alíquota. A remoção da alíquota deve ser executada numa localização adequada fora de uma área em que a amplificação é executada.
3. Inspeccione visualmente o material da alíquota na pipeta para verificar 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^x e GC Q^x Amplified DNA Assay, consulte os Folhetos Informativos dos testes fornecidos pelo fabricante.

CONSERVAÇÃO

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

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

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

MATERIAL NECESSÁRIO

Consulte o Manual do Utilizador do **BD PrepStain** Slide Processor para obter as informações completas acerca dos reagentes, componentes e acessórios. Nem todos os materiais listados abaixo são necessários para a preparação manual das lâminas **BD SurePath** (sem utilizar o processador de lâmina **BD PrepStain** Slide Processor).

Material fornecido

- **BD PrepStain** Slide Processor
- **BD SurePath** Collection Vial (inclui **BD SurePath** Preservative Fluid)
- Dispositivo(s) de amostragem cervical com cabeça(s) amovível(s)
- **BD** Density Reagent (reagente de densidade)
- **BD** Syringing Pipettes (pipetas com efeito de seringa)
- **BD** Settling Chambers (câmaras de assentamento)
- **BD** Cytology Stain Kit (kit de coloração para citologia)
- **BD** SurePath PreCoat Slides (lâminas pré-revestidas)
- **BD** Centrifuge Tubes (tubos de centrifugação)
- Suportes para lâminas e tubos
- **BD PrepStain** Transfer Tips (pontas de transferência)
- **BD** Aspirator Tips (pontas de aspiração)

Material necessário mas não fornecido

- Agitador vórtex
- Água desionizada (pH 7,5 a 8,5)
- **BD** Alcohol Blend Rinse (Mistura alcoólica de lavagem) ou isopropanol e álcool com grau adequado para reagente
- Agente de limpeza, meio de montagem e lamelas de vidro

INTERPRETAÇÃO DE DIAGNÓSTICO E ADEQUAÇÃO DA PREPARAÇÃO

Após a formação do utilizador, autorizada pela BD Diagnostics, referente ao **BD PrepStain** System e às lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test, podem ser aplicados os critérios de diagnóstico citológico do sistema Bethesda, actualmente utilizados nos laboratórios de citologia para esfregaços citológicos convencionais, às lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.[1] As directrizes recomendadas no Bethesda 2001 Reporting System abordam as preparações de base líquida e definem o modo de determinação da celularidade adequada especificamente para essas preparações.

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

(1) Número inadequado de células para diagnóstico (menos de 5.000 células epiteliais escamosas por preparação). De seguida, são descritos os procedimentos recomendados para estimar a contagem de células epiteliais escamosas bem conservadas nas lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test:

- Para cada modelo de microscópio usado no rastreio, verifique o manual do microscópio fornecido pelo fabricante ou contacte o fabricante do microscópio para determinar a área do campo de visão que utiliza a ocular preferida e a objectiva de 40x. Em alternativa, calcule a área do campo utilizando um hemocitómetro ou uma escala de medição de lâmina de microscópio similar (área do campo = πr^2 em que r é o raio do campo).
- O número médio mínimo de células por campo de objectiva de 40x deve ser determinado dividindo a área de deposição de células de cerca de 130 mm^2 da lâmina do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test pela área de campo para o microscópio específico. O número resultante é então dividido pelo mínimo de 5.000 células. O número resultante é o valor da adequação média mínima recomendada para células epiteliais num campo de visão da objectiva de 40x. Registe este número e conserve-o para consulta de rotina pelo técnico de citologia. As directrizes Bethesda 2001 indicam o número aproximado de células por campo para uma preparação de 13 mm.
- Deverá ser contabilizado um mínimo de dez campos horizontalmente ou verticalmente ao longo do centro do diâmetro da preparação.

- Como meio prático de avaliar a celularidade, pode ser usada a avaliação macroscópica da densidade visual da preparação corada para verificar a adequação das fases de produção da preparação. Não existe, contudo, qualquer substituto para a avaliação microscópica primária realizada pelo técnico de citologia durante o processo de rastreio.

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

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

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO: RELATÓRIO DE ENSAIOS CLÍNICOS

Primeiro estudo de amostra dividida

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

Seguindo as recomendações do documento da FDA "Points to Consider: Cervical Cytology Devices"[10] (aspectos a considerar relativamente aos dispositivos de citologia cervical), cada esfregaço citológico convencional foi preparado primeiro e depois a amostra restante no dispositivo de amostragem do tipo escova foi depositada num frasco **BD SurePath** Collection Vial.

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

Seguindo o método descrito por Shatzkin[11], este estudo recorreu a um patologista de referência independente, num centro de referência seleccionado, que analisou todos os casos anómalos e discrepantes, os casos corrigidos e 5% dos casos normais de todos os centros, com ocultação de modo a fornecer a "verdade" diagnóstica para cada caso.

Características das pacientes

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

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

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

Resultados do estudo

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

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

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

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

Resultados por centro

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

SP = **BD SurePath**
CN = Convencional

O Quadro 2 apresenta uma comparação directa dos resultados de todos os centros para o método de preparação do **BD SurePath** vs. preparação de esfregaço citológico convencional para todas as categorias de diagnóstico e tratamento.

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

Esfregaço citológico preparado pelo método convencional

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lâmina BD SurePath preparada por BD PrepStain	**WNL**	7.290	361	20	63	24	1	7.759
	ASCUS	343	101	4	44	15	2	509
	AGUS	26	6	4	0	0	0	36
	LSIL	87	52	2	147	53	1	342
	HSIL	20	10	7	17	79	2	135
	CA	2	1	2	0	6	15	26
	Total	7.768	531	39	271	177	21	8.807

No Quadro 1 e no Quadro 2 não estão incluídos os resultados do patologista de referência independente.

Quadro 3 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como ASCUS/AGUS – Análise dos Erros Discordantes

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	113	205	318
	Erro	180	229	409
		293	434	727

Êxito = ASCUS/AGUS
Erro = WNL e Reactiva/Regenerativa
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 1,62, p = 0,2026
Erros em Convencional: 205
Erros em BD SurePath: 180

O Quadro 3 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como ASCUS ou AGUS. Esta avaliação permite a análise dos erros discordantes para avaliar a sensibilidade dos métodos no delineamento de estudo de amostras divididas. Os erros incluem WNL e Reactiva/Regenerativa. Uma vez que o valor-p determinado pelo teste de McNemar foi superior a 0,05, os resultados do **BD SurePath** e do esfregaço citológico convencional foram considerados equivalentes.

Quadro 4 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como LSIL — Análise dos Erros Discordantes

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	140	63	203
	Erro	54	86	140
		194	149	343

Êxito = LSIL
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 0,69, p = 0,4054
Erros em Convencional: 63
Erros em BD SurePath: 54

O Quadro 4 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como LSIL. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS. Tal como com ASCUS/AGUS, a sensibilidade dos dois métodos no estudo de amostras divididas foi estatisticamente equivalente, com um valor-p superior a 0,05.

Quadro 5 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL+ Análise dos Erros Discordantes (LSIL não é um erro)

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	160	28	188
	Erro	36	38	74
		196	66	262

Êxito = HSIL+
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa e ASCUS/AGUS
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 1,00, p = 0,3173
Erros em Convencional: 28
Erros em BD SurePath: 36

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

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

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	19	2	21
	Erro	5	1	6
		24	3	27

Êxito = Cancro
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 1,645, p = 0,1980
Erros em Convencional: 2
Erros em BD SurePath: 5

O Quadro 6 apresenta os resultados (todos os centros) para os casos considerados de cancro pelo método de referência. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. A análise da sensibilidade dos erros discordantes revelou equivalência estatística dos métodos. Estes 27 casos de cancro foram incluídos no estudo de reavaliação. Estes dados podem ser encontrados no Quadro 9.

Quadro 7 Primeiro estudo de amostra dividida: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL+ Análise dos Erros Discordantes (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	94	33	127
	Erro	67	68	135
		161	101	262

Êxito = (HSIL+)
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 11,56, p = 0,0007
Erros em Convencional: 33
Erros em BD SurePath: 67

O Quadro 7 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Embora não seja consistente com o protocolo original do estudo[10], foi realizada uma comparação estatística dos métodos em que LSIL foi considerado um erro de diagnóstico relativamente a um caso determinado HSIL+ pelo único patologista de referência independente. Nesta comparação estatística de sensibilidades de diagnóstico, quando se considera que LSIL é um erro, e não uma discrepância pouco significativa, as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparadas pelo **BD PrepStain** System não seriam equivalentes ao esfregaço citológico preparado da forma convencional no que se refere à detecção da anomalia HSIL+ no estudo de amostra dividida.

REAVALIAÇÃO OCULTA DOS CASOS DE HSIL+

Foi realizada uma nova avaliação com o objectivo de determinar se os resultados foram afectados pela qualidade da preparação ou pela subjectividade na interpretação. De modo a avaliar os 262 casos diagnosticados como HSIL+ no estudo original (Quadro 7), foi realizada uma avaliação adicional após a implementação de um novo programa de formação para profissionais de citologia destinado a realçar uma interpretação consistente entre os grupos de diagnóstico do sistema Bethesda. Estes casos de HSIL+ foram ocultados novamente como parte de uma reavaliação composta por um total de 2.438 amostras preparadas utilizando o mesmo protocolo de amostra dividida. Os resultados dos centros de estudo para as duas preparações foram então comparados a um novo valor de referência que exigia o acordo de pelo menos dois de entre três patologistas de referência independentes quanto ao diagnóstico citológico mais anormal.

No processo de referência para a reavaliação, as duas preparações de lâminas dos casos discordantes (lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparadas por **BD PrepStain** e lâminas preparadas da forma convencional) foram novamente analisadas por um segundo técnico de citologia, tendo sido acrescentadas anomalias recém-identificadas às que já tinham sido encontradas no rastreio inicial. Os três patologistas de citologia de referência avaliaram então todos os casos discordantes utilizando um protocolo com ocultação. Este método de referência mais rigoroso reduziu o número de casos de referência de HSIL+ de 262 no estudo original para 209 na reavaliação. A diferença de 53 casos pode ser explicada do seguinte modo: 48 casos foram diagnosticados pelo método de referência mais rigoroso como LSIL

ou menos grave; a adequação de 3 dos casos foi considerada insatisfatória após reavaliação; e os 2 casos restantes não se encontravam disponíveis para avaliação no estudo de reavaliação com ocultação.

Quadro 8 Estudo de reavaliação: Análise dos erros discordantes para 209 casos de HSIL+ no estudo original reavaliados pelos critérios de referência mais rigorosos com a participação de três patologistas de referência independentes

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	153	26	179
	Erro	24	6	30
		177	32	209

Êxito = HSIL+
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 0,02, p = 0,8875
Erros em Convencional: 26
Erros em BD SurePath: 24

O Quadro 8 apresenta os resultados para os casos identificados pelo patologista de referência como HSIL+. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Nesta comparação, LSIL foi considerada um erro de diagnóstico relativamente a um caso determinado como HSIL+ pelo patologista de referência independente. A comparação das sensibilidades de diagnóstico demonstrou uma equivalência estatística entre os dois métodos.

Quadro 9 Estudo de reavaliação: Análise dos erros discordantes para casos de cancro (HSIL não é um erro; LSIL é considerado um erro)

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	32	3	35
	Erro	3	0	3
		35	3	38

Êxito = Cancro
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Erros em Convencional: 3
Erros em BD SurePath: 3

O Quadro 9 apresenta os resultados para os casos considerados como cancro pelo novo método de referência (todos os centros). Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. Um dos erros resultou de uma interpretação como LSIL. Todos os outros erros envolveram a interpretação das lâminas como sendo ACUS/AGUS ou WNL. A análise da sensibilidade dos erros discordantes revelou equivalência estatística dos métodos.

A reavaliação com ocultação conteve 2.097 novos casos que foram utilizados para ocultar novamente as amostras HSIL+ originais. A análise e comparação das preparações destes novos casos é apresentada no Quadro 10.

Quadro 10 Estudo de reavaliação: Comparação directa de 2097 resultados dos centros — Nenhum patologista de referência

Esfregaço citológico preparado pelo método convencional

		WNL	ASCUS	AGUS	LSIL	HSIL	CA	Total
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**WNL**	1.561	128	0	47	30	0	1.766
	ASCUS	80	37	1	6	8	1	133
	AGUS	9	7	0	0	1	0	17
	LSIL	33	11	1	33	11	1	90
	HSIL	26	18	1	18	19	3	85
	CA	1	2	0	0	1	2	6
	Total	1.710	203	3	104	70	7	2.097

Dos 2097 novos casos descritos acima, 77 foram diagnosticados como HSIL+ pelos patologistas de referência. O Quadro 11 apresenta a análise da sensibilidade para esses 77 casos de HSIL+.

Quadro 11 Estudo de reavaliação: Comparação dos resultados de todos os centros para casos designados pelo método de referência como HSIL+ Análise dos Erros Discordantes (LSIL foi considerado um erro nesta análise)

Lâmina preparada pelo método convencional

		Êxito	Erro	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	**Êxito**	25	21	46
	Erro	21	10	31
		46	31	77

Êxito = HSIL+
Erro = WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL
Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 0,00, p = 1,0000
Erros em Convencional: 21
Erros em BD SurePath: 21

A análise dos erros discordantes no Quadro 11 demonstrou um número igual de erros de falha de detecção de HSIL+ para ambos os métodos de preparação. Os erros incluem WNL, Reactiva/Regenerativa, ASCUS/AGUS e LSIL. O teste estatístico demonstrou equivalência entre os dois métodos na concepção de amostra dividida mesmo quando a LSIL foi considerada um erro relativamente ao valor de referência da HSIL+.

O Quadro 12 resume os diagnósticos descritivos dos resultados benignos de todos os centros.

Quadro 12 Primeiro estudo de amostra dividida: Resumo de alterações celulares benignas

Diagnóstico descritivo (N.º de pacientes: 8.807)	**Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain**		**Lâmina preparada pelo método convencional**	
	N	%	N	%
Alterações celulares benignas				
* Infecção:				
Espécie *Candida*	440	5,0	445	5,1
Trichomonas vaginalis	118	1,3	202	2,3
Herpes	8	0,1	6	0,1
Gardnerella	85	1,0	44	0,5
Espécie *Actinomyces*	6	0,1	2	<0,1
Bactérias (outras)	52	0,6	191	2,2
** Alterações reactivas regenerativas	424	4,8	319	3,6

* Para a categoria Infecção acima referida, são reportados os agentes infecciosos observados. É possível que mais de uma classe de organismos esteja representada em cada caso.

** As alterações reactivas regenerativas incluem alterações reactivas associadas a inflamação, vaginite atrófica, radiação e utilização de DIU bem como regeneração típica envolvendo células epiteliais escamosas, colunares ou metaplásicas escamosas.

Um total de 8.807 casos não apresentou qualquer avaliação “insatisfatória”, quer pelos centros de estudo, quer pelo centro de referência. Outras 239 amostras foram classificadas como “insatisfatórias” por um ou ambos os centros de estudo e/ou pelo centro de referência relativamente a uma ou outra das preparações ou relativamente a ambas. Dos 239 casos insatisfatórios, 151 foram encontrados apenas em lâminas convencionais; 70 em apenas lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test; tendo 18 sido observados tanto nas lâminas convencionais como nas lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Todos os casos insatisfatórios foram excluídos da comparação de diagnóstico pelas categorias do sistema Bethesda, mas foram novamente incluídos para a comparação da adequação da preparação.

Os Quadros 13 a 16 apresentam os resultados da adequação da preparação em todos os centros.

Quadro 13 Primeiro estudo de amostra dividida: Resultados da adequação da preparação

Adequação da preparação (N.º de pacientes: 9.046)	Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain		Lâmina preparada pelo método convencional	
	N	%	N	%
Satisfatória	7.607	84,1	6.468	71,5
Satisfatória mas limitada por:	1.385	15,3	2.489	27,5
Ausência de componente endocervical	1.283	14,2	1.118	12,4
Artefacto de secagem ao ar	0	0	17	0,2
Esfregaço espesso	1	< 0,1	0	0
Sangue a ocultar	53	0,6	121	1,3
Inflamação a ocultar	102	1,1	310	3,4
Poucas células epiteliais escamosas	4	< 0,1	7	0,1
Citólise	10	0,1	11	0,1
Ausência de história clínica	0	0	0	0
Não especificado	60	0,7	1.018	11,3
Insatisfatória para avaliação:	54	0,6	89	1,0
Ausência de componente endocervical	42	0,5	42	0,5
Artefacto de secagem ao ar	0	0	0	0
Esfregaço espesso	0	0	2	< 0,1
Sangue a ocultar	7	0,1	6	0,1
Inflamação a ocultar	6	0,1	6	0,1
Poucas células epiteliais escamosas	6	0,1	0	0
Citólise	0	0	1	< 0,,1
Ausência de história clínica	0	0	0	0
Não especificado	37	0,4	32	0,5

Nota: *Algumas das pacientes incluem-se em mais de uma subcategoria.*

Outros casos insatisfatórios foram determinados pelo patologista de referência e o número total de resultados insatisfatórios é apresentado no Quadro 15. No quadro, SAT = Satisfatória, SBLB = Satisfatória mas limitada por (uma condição especificada) e UNSAT = insatisfatória.

O Quadro 14 apresenta os resultados da comparação da adequação da preparação utilizando os dois métodos de preparação. Registou-se um número significativamente inferior de casos Insatisfatórios e de SBLB com as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test em comparação com as lâminas convencionais.

Quadro 14 Primeiro estudo de amostra dividida: Resumo dos resultados da adequação da preparação em todos os centros de ensaio clínico

		Lâmina preparada pelo método convencional			
		SAT	SBLB	UNSAT	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	SAT	5.868	1.693	46	7.607
	SBLB	579	772	34	1.385
	UNSAT	21	24	9	54
		6.468	2489	89	9.046

UNSAT: Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 9,33, p = 0,0023
SBLB: Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 546,21, p = 0,0000

O Quadro 15 apresenta a comparação das preparações satisfatórias e insatisfatórias das avaliações feitas tanto nos centros do estudo como no centro de referência. As lâminas **BD SurePath** Liquid-based Pap Test apresentam uma redução estatisticamente significativa de casos insatisfatórios relativamente às lâminas convencionais.

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

		Lâmina preparada pelo método convencional		
		SAT	UNSAT	
Lâmina BD SurePath Pap Test Slide preparada por BD PrepStain	SAT	8.807	151	8.958
	UNSAT	70	18	88
		8.877	169	9.046

Resultado do Teste de McNemar: X^2 mc = 29,69, p = 0,0000

Quadro 16 Resultados da adequação da preparação por centro — Taxas de SBLB para Ausência de componente endocervical (ECC)

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

A detecção de células endocervicais (Quadro 16) variou nos diferentes centros do estudo. Em termos gerais, registou-se uma diferença de 1,8% na detecção de células endocervicais entre os métodos do citologia convencional e **BD SurePath**, o que constitui um resultado semelhante aos estudos anteriores em que se utilizou a metodologia da amostra dividida.[16,17]

As lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test produzidas pelo **BD PrepStain** System forneceram resultados semelhantes às citologias convencionais nas comparações de amostras divididas numa série de populações de pacientes e de definições laboratoriais. Além disso, registou-se um número significativamente inferior de casos Insatisfatórios e de SBLB com as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test relativamente às citologias convencionais. Deste modo, a lâmina do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test pode ser utilizada em substituição da citologia convencional na detecção de células atípicas, lesões pré-cancerosas, cancro do colo do útero e todas as outras categorias citológicas definidas pelo sistema Bethesda.

AVALIAÇÃO DA PREPARAÇÃO DA LÂMINA DO BD SUREPATH LIQUID-BASED PAP TEST SLIDE UTILIZANDO O BD PREPMATE E OS MÉTODOS MANUAIS BD SUREPATH

A BD Diagnostics (anteriormente conhecida como TriPath Imaging) realizou um ensaio clínico multicêntrico de prospecção para avaliar duas modificações ao procedimento aprovado pela FDA para a preparação de lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Segue-se uma descrição das modificações ao processo aprovado para a preparação de lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test:

- A inclusão do acessório automatizado **BD PrepMate** Automated Accessory (método **BD PrepMate**), que automatiza os primeiros passos manuais do processo laboratorial **BD PrepStain**. O método **BD PrepMate** mistura e retira automaticamente a amostra dos frascos **BD SurePath** Collection Vials e dispõe a amostra em camadas sobre o reagente **BD** Density Reagent numa proveta.
- A inclusão do método manual **BD SurePath**, no qual, em vez de se utilizar o instrumento **BD PrepStain** Slide Processor para suspensão das células e coloração da lâmina, a suspensão de células é manualmente disposta em camadas sobre a lâmina e corada por um técnico laboratorial.

Este estudo avaliou mais de 400 casos numa comparação com ocultação dos dois métodos alternativos ao procedimento actualmente aprovado para a preparação de lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. A comparação baseou-se em critérios morfológicos e de qualidade aplicados às lâminas preparadas por cada um dos métodos.

Os principais objectivos do estudo consistiam em:

- Avaliar os aspectos morfológicos e de qualidade das lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparadas utilizando o método **BD PrepMate** quando comparadas com as lâminas preparadas de acordo com o método aprovado de utilização do **BD PrepStain** System (designado por método **BD PrepStain**).
- Avaliar os aspectos morfológicos e de qualidade das lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparadas utilizando o método manual **BD SurePath** quando comparadas com as lâminas preparadas de acordo com o método aprovado **BD PrepStain**.

Outros objectivos do estudo consistiam em:

- Determinar se o grau de concordância entre o método **BD PrepStain** aprovado e o método **BD PrepMate** era superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso.
- Determinar se o grau de concordância entre o método **BD PrepStain** aprovado e o método manual **BD SurePath** era superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com os padrões do sistema **BD PrepStain** System para a preparação de lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test utilizando o método **BD PrepMate**.
- Avaliar a adequação da amostra de acordo com os padrões do **BD PrepStain** System para a preparação de lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test utilizando o método **BD SurePath**.

ACESSÓRIO AUTOMATIZADO BD PREPMATE

O instrumento **BD PrepMate** é um acessório do **BD PrepStain** System que automatiza dois passos manuais — mistura e disposição em camadas das amostras — do processo laboratorial **BD PrepStain**. O **BD PrepMate** mistura completamente, retira com precisão a amostra dos frascos de conservante **BD SurePath** Collection Vials e dispõe a amostra em camadas sobre o reagente **BD** Density Reagent numa proveta. Um suporte de amostras pré-carregado com frascos de colheita, pipetas com efeito de seringa e provetas (contendo **BD** Density Reagent) é colocado no tabuleiro do instrumento. O suporte contém um máximo de doze frascos, tubos e pipetas com efeito de seringa, dispostos em três filas, cada uma com quatro elementos. Os frascos, as pipetas com efeito de seringa e os tubos são descartáveis. Só podem ser utilizados uma vez, para eliminar a possibilidade de contaminação das amostras.

MÉTODO MANUAL BD SUREPATH

O método manual **BD SurePath** utiliza um procedimento manual para disposição da suspensão de células em camadas sobre as lâminas e para coloração da preparação. A colheita e o processamento da amostra ginecológica são idênticas tanto no método manual como no método **BD PrepStain** aprovado até à altura em que se utiliza o instrumento **BD PrepStain** Slide Processor.

No método **BD PrepStain**, os aglomerados de células centrifugadas são colocados directamente sobre o instrumento **BD PrepStain** Slide Processor para processamento automatizado, de modo a produzir lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test coradas.

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

DISTRIBUIÇÃO DAS LÂMINAS

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

Quadro 17 Distribuição das lâminas

	Casos	Lâminas
Número total incluído no estudo	**471**	**1.413**
Número total excluído da análise	**–68**	**–204**
Documentação incompleta	–39	–117
Lâminas preparadas incorrectamente	–24	–72
Outros motivos de exclusão*	–5	–15
Número total incluído na análise	**403**	**1.209**

* Amostras em falta, números de pacientes duplicados, etc.

DADOS DEMOGRÁFICOS DA POPULAÇÃO

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

Quadro 18 Dados demográficos das pacientes

Idade	Número de casos
19 ou inferior	3
20 – 29	73
30 – 39	158
40 – 49	105
50 +	64
Total	403

O Quadro 19 apresenta as informações clínicas actuais e o Quadro 20 apresenta os antecedentes clínicos para todos os casos incluídos na população do estudo. Convém referir que foi permitida a selecção de mais de um dos itens, pelo que a contagem total de casos pode não corresponder ao número total de casos na população do estudo.

Quadro 19 Informações clínicas actuais

Informações clínicas	Número de casos
Cíclica	241
Ciclo irregular	69
Histerectomia	16
Gravidez	9
Pós-aborto	0
Pós-natal	9
Pós-menopáusica	58
Peri-menopáusica	1
Imunidade reduzida	0
Apresentação GYN anormal	0
Corrimento vaginal	137
Terapêutica de substituição de estrogénios	19
DIU	2
Contraceptivo oral/implante	20
Sem contracepção	181
Informação não disponível	22

Quadro 20 História clínica

Histórico	Número de casos
Citologia anterior anormal	13
Historial de hemorragias anormais	36
Biópsia	3
Antecedentes de cancro	1
Quimioterapia	0
Radiação	0
Colposcopia	9
HIV/SIDA	0
VPH (vírus do papiloma humano)	0
Herpes	1
Antecedentes de LTB*	1
Antecedentes de DIP**	57
Nada a indicar	363

* Laqueação tubária bilateral

** Doença inflamatória pélvica

RESULTADOS DO ESTUDO

A finalidade deste estudo é determinar se as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test preparadas utilizando os procedimentos do método **BD PrepMate** e do método manual **BD SurePath** obtiveram um resultado favorável na comparação com as preparadas utilizando o método aprovado **BD PrepStain**. Os dados clínicos demonstram que as lâminas preparadas com o método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** são comparáveis em termos de morfologia e qualidade com as preparadas pelo método **BD PrepStain** aprovado.

Os dados clínicos também demonstram que o desempenho de diagnóstico é idêntico no método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** quando comparados com o método **BD PrepStain** aprovado. Além disso, a adequação das lâminas preparadas pelo método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** não difere da das lâminas preparadas pelo método **BD PrepStain** aprovado. Estes resultados corroboram a comparabilidade do método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** relativamente ao método **BD PrepStain** aprovado.

QUALIDADE E MORFOLOGIA DAS AMOSTRAS

O Quadro 21 apresenta os resultados dos objectivos principais. A aceitabilidade das lâminas preparadas por cada um dos métodos foi avaliada relativamente aos critérios de morfologia e qualidade apresentados no quadro. Para cada um dos critérios, a proporção de lâminas aceitáveis foi calculada juntamente com o correspondente intervalo de confiança exacto de 95%.

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

		Método de preparação de lâminas					
		BD PrepStain		BD PrepMate		Método manual BD SurePath	
		Taxa (n/N)	CI 95% Exacto	Taxa (n/N)	CI 95% Exacto	Taxa (n/N)	CI 95% Exacto
Critérios de aceitabilidade	Coloração	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973
	Limpidez	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9876 (398/403)	0,9713, 0,9960	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Nuclear	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999
	Citologia	0,9950 (401/403)	0,9822, 0,9994	0,9901 (399/403)	0,9748, 0,9973	1,0000 (403/403)	0,9909, 1,0000
	Agrupamento	0,9926 (400/403)	0,9784, 0,9985	0,9975 (402/403)	0,9863, 0,9999	0,9603 (387/403)	0,9363, 0,9771
	Celularidade	0,9305 (375/403)	0,9011, 0,9533	0,9454 (381/403)	0,9185, 0,9655	0,9404 (379/403)	0,9127, 0,9615

As taxas de aceitabilidade do método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** são quase sempre idênticas ou superiores às do método **BD PrepStain**. Além disso, os intervalos de confiança exactos de 95% para o método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** sobrepõem-se substancialmente aos do método **BD PrepStain** aprovado relativamente a cada um dos critérios. Tal implica que as lâminas preparadas pelo método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** são comparáveis em termos de morfologia e qualidade com as preparadas pelo método **BD PrepStain** aprovado. A qualidade da preparação é, portanto, idêntica para o método aprovado e para os dois métodos testados.

CONCORDÂNCIA NO DIAGNÓSTICO

Esta análise compara os diagnósticos em lâminas preparadas por cada um dos métodos. Uma vez que estes dados provêm de amostras divididas, as matrizes de diagnóstico apresentadas no Quadro 22 e no Quadro 23 baseiam-se em amostras emparelhadas, comparando cada um dos métodos de preparação de lâminas do teste (método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath**) com o método **BD PrepStain** aprovado. Idealmente, o diagnóstico obtido a partir das lâminas preparadas pelos dois métodos é igual. Este facto é representado pelo número de lâminas com diagnóstico idêntico, que aparecem na diagonal principal de cada quadro.

A primeira medida de concordância é a proporção de lâminas na diagonal principal e os intervalos de confiança exacto de 95% correspondentes. A segunda medida de concordância é obtida a partir da estatística kapa, que foi calculada para cada comparação e testada. O teste determina se o grau de concordância entre os dois métodos é superior ao que seria de esperar se se tratasse apenas de um acaso. Devido ao facto de as observações estarem ordenadas, é mais importante que as observações se situem sobre a diagonal principal ou próximo da mesma. A estatística do kapa ponderado atribui maior importância às observações que se situam sobre a diagonal principal ou próximo da mesma nos quadros.

COMPARAÇÃO DO MÉTODO APROVADO BD PREPSTAIN E BD PREPMATE

No Quadro 22, o número de lâminas na diagonal principal é de 367 (2+334+8+6+5+11+1) e a proporção de lâminas na diagonal principal é de 0,9107 (367/403) com limites de confiança exactos de 95% entre 0,8785 e 0,9366.

Se as lâminas não satisfatórias forem excluídas da tabela, eliminando-se a primeira linha e a primeira coluna, ficam 397 lâminas. A proporção de lâminas na principal diagonal é de 0,9194 (365/397) com limites de confiança de 95% entre 0,8881 e 0,9442.

Os resultados apresentados no Quadro 22 indicam que o método **BD PrepStain** aprovado e o método **BD PrepMate** possuem uma elevada proporção de lâminas com concordância no diagnóstico, como indica a proporção de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kapa ponderado indica que a concordância foi muito superior ao que poderia ser atribuído apenas ao acaso.

Quadro 22 Apresentação cruzada em tabela dos diagnósticos pelos métodos **BD PrepStain** e **BD PrepMate**.

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

COMPARAÇÃO DO MÉTODOS APROVADO BD PREPSTAIN E MÉTODO MANUAL BD SUREPATH

No Quadro 23, o número de lâminas na diagonal principal é de 353 (3+315+6+10+7+11+1). A proporção de lâminas na diagonal principal é de 0,8759 (353/403). O binómio exacto dos limites de confiança de 95% para esta proporção é de 0,8397 para 0,9065.

Se as lâminas não satisfatórias forem excluídas da tabela, eliminando-se a primeira linha e a primeira coluna, ficam 398 lâminas. A proporção de lâminas na principal diagonal é de 0,8794 (350/398) com limites de confiança de 95% entre 0,8433 e 0,9097. Os resultados apresentados no Quadro 23 indicam que o método **BD PrepStain** aprovado e o método manual **BD SurePath** possuem uma elevada proporção de lâminas com concordância no diagnóstico, como indica a proporção de lâminas na diagonal principal do quadro. Além disso, a análise do kapa ponderado indica que a concordância foi muito superior ao que poderia ser atribuído apenas ao acaso. Assim sendo, o desempenho a nível do diagnóstico é idêntico para o método aprovado e para os dois métodos testados.

Quadro 23 Apresentação cruzada em tabela dos diagnósticos pelo método **BD PrepStain** e método manual **BD SurePath**

		Diagnóstico pelo método BD PrepStain									
		UNSAT	WNL	BCC-RR	Atipia	LSIL	HSIL	DYSPL	AIS	CA	Total
Diagnóstico do pelo método manual	UNSAT	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
	WNL	1	315	1	3	1	0	0	0	0	321
	BCC-RR	0	19	6	0	0	0	0	0	0	25
	Atipia	0	12	4	10	0	0	0	0	0	26
	LSIL	0	1	1	3	7	0	0	0	0	12
	HSIL	1	1	0	1	1	11	0	0	0	15
	DYSPL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	AIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	CA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	Total	5	348	12	17	9	11	0	0	1	403

ADEQUAÇÃO DAS LÂMINAS

A adequação das lâminas também foi avaliada para cada um dos métodos de preparação. Os dados foram analisados utilizando um teste de McNemar bi-partido.[18]

O Quadro 24 apresenta os resultados da adequação quando da comparação do método **BD PrepStain** aprovado com o método **BD PrepMate**.

Quadro 24 Resultados da adequação para as lâminas produzidas pelos métodos **BD PrepMate** e **BD PrepStain**

		Resultado pelo método BD PrepStain		
		SAT ou SBLB	UNSAT	
Resultado pelo método BD PrepMate	SAT ou SBLB	398	3	401
	UNSAT	0	2	2
		398	5	403

O Quadro 25 apresenta os resultados da adequação quando da comparação do método **BD PrepStain** aprovado com o método manual **BD SurePath**.

Quadro 25 Resultados da adequação para as lâminas produzidas pelo método manual **BD SurePath** e método **BD PrepStain**

		Resultado pelo método BD PrepStain		
		SAT ou SBLB	**UNSAT**	
Resultado pelo método manual BD SurePath	**SAT ou SBLB**	398	2	400
	UNSAT	0	3	3
		398	5	403

Estas duas comparações demonstram que o método **BD PrepMate** e método manual **BD SurePath** não diferem do método **BD PrepStain** aprovado no que se refere à adequação das lâminas.

ESTUDO DIRECT-TO-VIAL (DIRECTAMENTE PARA O FRASCO)

Na sequência da aprovação inicial pela FDA do **BD PrepStain** System, a BD Diagnostics (anteriormente conhecida como TriPath Imaging) realizou um estudo multicêntrico de grande dimensão sobre o **BD PrepStain** System quando utilizado conforme previsto com amostras colocadas directamente no frasco. Os estudos clínicos anteriores utilizaram um método de amostra dividida em que a amostra era primeiro utilizada para criar uma lâmina de citologia convencional e a amostra remanescente era colocada no frasco de colheita **BD SurePath** Collection Vial e processada pelo **BD PrepStain** System para criar uma lâmina do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Está demonstrado que o delineamento de estudo de amostras divididas subestima o verdadeiro desempenho do teste que é preparado a partir do material celular residual.[12]

Este estudo comparou o desempenho das lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test produzidas a partir de amostras colocadas directamente no frasco com os esfregaços citológicos convencionais. Os resultados obtidos com as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test foram comparados com os resultados obtidos a partir de um coorte de esfregaços citológicos convencionais. Este estudo avaliou, especificamente, se as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test melhoravam as hipóteses de detecção de lesões intraepiteliais escamosas de alto grau (HSIL), adenocarcinoma *in-situ* e cancro (HSIL+). Todos os dados de biópsias disponíveis foram coligidos para as duas populações representadas nas lâminas.

A população **BD SurePath** era composta por 58.580 lâminas colhidas prospectivamente em 57 clínicas que tinham feito a conversão praticamente a 100% da colheita de esfregaço citológico convencional para a colheita de amostras **BD SurePath**. As amostras colhidas nestas clínicas foram enviadas para três centros clínicos para processamento.

A população convencional era composta por 58.988 lâminas provenientes das mesmas clínicas que as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test. Esta população histórica foi recolhida com início nas lâminas mais recentes anteriores à conversão das clínicas para o **BD SurePath** Liquid-based Pap Test e depois recuando no tempo até as populações de lâminas convencionais e do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test de cada centro clínico terem um número aproximadamente igual.

Os resultados deste estudo demonstraram uma taxa de detecção de 405/58.580 para as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test comparativamente a 248/58.988 para as lâminas convencionais, resultando em taxas de detecção de 0,691% e 0,420%, respectivamente (ver o Quadro 26). Para estes centros clínicos e estas populações de estudo, estes resultados indicam um aumento de 64,4% (p<0,00001) na detecção de lesões HSIL+ com as lâminas do **BD SurePath** Liquid-based Pap Test.

Quadro 26 Comparação das taxas de detecção por centro

HSIL+

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

LSIL+

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

ASCUS+

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

Amostra não satisfatória

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

Nota: *É de esperar que existam variações de desempenho de um centro para o outro. Cada laboratório deve monitorizar cuidadosamente a qualidade do seu próprio trabalho.*

PROCEDIMENTO

Os procedimentos completos para a preparação de lâminas para **BD SurePath** Liquid-based Pap Test encontram-se no Manual do Utilizador do **BD PrepStain** Slide Processor.

BIBLIOGRAFIA: Consulte “References” no texto em Inglês.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite www.bd.com/ds.

Do not reuse / Не използвайте отново / Nepoužívejte opakovaně / Ikke til genbrug / Nicht wiederverwenden / Μην επαναχρησιμοποιείτε / No reutilizar / Mitte kasutada korduvalt / Ne pas réutiliser / Ne koristiti ponovo / Egyszer használatos / Non riutilizzare / Пайдаланбаңыз / Tik vienkartiniam naudojimui / Nelietot atkārtoti / Niet opnieuw gebruiken / Kun til engangsbruk / Nie stosować powtórnie / Não reutilize / Nu refolosiţi / Не использовать повторно / Nepoužívajte opakovane / Ne upotrebljavajte ponovo / Får ej återanvändas / Tekrar kullanmayın / Не використовувати повторно

Use by / Използвайте до / Spotřebujte do / Brug før / Verwendbar bis / Χρήση έως / Usar antes de / Kasutada enne / Date de péremption / Upotrijebiti do / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Дейін пайдалануға / Naudokite iki / Izlietot līdz / Houdbaar tot / Brukes for / Stosować do / Prazo de validade / A se utiliza până la / Использовать до / Použite do / Upotrebiti do / Använd före / Son kullanma tarihi / Використати до\line
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutning af måned)
JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende)
EEEE-MM-HH / EEEE-MM (MM = τέλος του μήνα)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fin del mes)
AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp)
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)
ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja)
AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese)
ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА / (АА = айдың соңы)
MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga)
GGGG-MM-DD/GGGG-MM (MM = mēneša beigas)
JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutten av måneden)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca)
AAAA-MM-DD / AAAA-MM (MM = fim do mês)
AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârşitul lunii)
ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца)
RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiaca)
GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca)
ÅÅÅÅ-MM-DD / ÅÅÅÅ-MM (MM = slutet av månaden)
YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu)
РРРР-ММ-ДД / РРРР-ММ (ММ = кінець місяця)

Batch Code (Lot) / Код на партидата / Kód (číslo) šarže / Batch-kode (lot) / Batch-Code (Charge) / Κωδικός παρτίδας (παρτίδα) / Código de lote (lote) / Partii kood / Numéro de lot / Lot (kod) / Tétel száma (Lot) / Codice batch (lotto) / Топтама коды / Partijos numeris (LOT) / Partijas kods (laidiens) / Lot nummer / Batch-kode (parti) / Kod partii (seria) / Código do lote / Cod de serie (Lot) / Код партии (лот) / Kód série (šarža) / Kod serije / Partinummer (Lot) / Parti Kodu (Lot) / Код партії

Catalog number / Каталожен номер / Katalogové číslo / Katalognummer / Αριθμός καταλόγου / Número de catálogo / Katalooginumber / Numéro catalogue / Kataloški broj / Katalógusszám / Numero di catalogo / Каталог нөмірі / Katalogo numeris / Kataloga numurs / Catalogus nummer / Numer katalogowy / Număr de catalog / Номер по каталогу / Katalógové číslo / Kataloški broj / Katalog numarası / Номер за каталогом

Caution, consult accompanying documents / Внимание, направете справка в придружаващите документи / Pozor! Prostudujte si přiloženou dokumentaci! / Forsigtig, se ledsagende dokumenter / Achtung, Begleitdokumente beachten / Προσοχή, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα / Precaución, consultar la documentación adjunta / Ettevaatust! Lugeda kaasnevat dokumentatsiooni / Attention, consulter les documents joints / Upozorenje, koristi prateću dokumentaciju / Figyelem! Olvassa el a mellékelt tájékoztatót / Attenzione: consultare la documentazione allegata / Абайлаңыз, тиісті құжаттармен танысыңыз / Dėmesio, žiūrėkite pridedamus dokumentus / Piesardzība, skatīt pavaddokumentus / Voorzichtig, raadpleeg bijgevoegde documenten / Forsiktig, se vedlagt dokumentasjon / Należy zapoznać się z dołączonymi dokumentami / Cuidado, consulte a documentação fornecida / Atenţie, consultaţi documentele însoţitoare / Внимание: см. прилагаемую документацию / Výstraha, pozri sprievodné dokumenty / Pažnja! Pogledajte priloženu dokumenta / Obs! Se medföljande dokumentation / Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun / Увага: див. супутню документацію

Manufacturer / Производител / Výrobce / Fabrikant / Hersteller / Κατασκευαστής / Fabricante / Tootja / Fabricant / Proizvođač / Gyártó / Fabbricante / Атқарушы / Gamintojas / Ražotājs / Tilvirker / Producent / Producător / Производитель / Výrobca / Proizvođač / Tillverkare / Üretici / Виробник

In Vitro Diagnostic Medical Device / Медицински уред за диагностика ин витро / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In vitro diagnostika meditsiiniaparatuur / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medicale per diagnostica in vitro / Жасанды жағдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / In vitro diagnostikos prietaisas / Medicīnas ierīces, ko lieto in vitro diagnostikā / Medisch hulpmiddel voor in-vitro diagnostiek / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro / Медицинский прибор для диагностики in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik / İn Vitro Diyagnostik Tıbbi Cihaz / Медичний пристрій для діагностики in vitro

Consult Instructions for Use / Направете справка в инструкциите за употреба / Prostudujte pokyny k použití / Se brugsanvisningen / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Consultar las instrucciones de uso / Lugeda kasutusjuhendit / Consulter la notice d'emploi / Koristi upute za upotrebu / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Skatīt lietošanas pamācību / Raadpleeg de gebruiksaanwijzing / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consultar as instruções de utilização / Consultaţi instrucţiunile de utilizare / См. руководство по эксплуатации / Pozri Pokyny na používanie / Pogledajte uputstvo za upotrebu / Se bruksanvisningen / Kullanım Talimatları'na başvurun / Див. інструкції з використання

Temperature limitation / Температурни ограничения / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturbegrenzung / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Limitación de temperatura / Temperatuuri piirang / Limites de température / Dozvoljena temperatura / Hőmérsékleti határ / Limiti di temperatura / Температураны шектеу / Laikymo temperatūra / Temperatūras ierobežojumi / Temperatuurlimiet / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limites de temperatura / Limite de temperatură / Ограничение температуры / Ohraničenie teploty / Ograničenje temperature / Temperaturgräns / Sıcaklık sınırlaması / Обмеження температури

Contains sufficient for <n> tests / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις / Contenido suficiente para <n> pruebas / Küllaldane <n> testide jaoks / Contenu suffisant pour <n> tests / Sadržaj za <n> testova / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / <n> тесттері үшін жеткілікті / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Satur pietiekami <n> pārbaudēm / Inhoud voldoende voor "n" testen / Innholder tilstrekkelig til <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Conteúdo suficiente para <n> testes / Conţinut suficient pentru <n> teste / Достаточно для <n> тестов(а) / Obsah vystačí na <n> testov / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Innehåller tillräckligt för <n> analyser / <n> test için yeterli malzeme içerir / Вистачить для аналізів: <n>

Authorized Representative in the European Community / Оторизиран представител в Европейската общност / Autorizovaný zástupce pro Evropském společenství / Autoriseret repræsentant i De Europæiske Fællesskaber / Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Représentant autorisé pour la Communauté européenne / Autorizuirani predstavnik u Europskoj uniji / Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā / Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo we Wspólnocie Europejskiej / Representante autorizado na Comunidade Europeia / Reprezentantul autorizat pentru Comunitatea Europeană / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Autorizovano predstavništvo u Evropskoj uniji / Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen / Avrupa Topluluğu Yetkili Temsilcisi / Уповноважений представник у країнах ЄС

Fragile, Handle With Care / Чупливо, Работете с необходимото внимание. / Křehké. Při manipulaci postupujte opatrně. / Forsigtig, kan gå i stykker. / Zerbrechlich, vorsichtig handhaben. / Εύθραυστο. Χειριστείτε το με προσοχή. / Frágil. Manipular con cuidado. / Õrn, käsitsege ettevaatlikult. / Fragile. Manipuler avec précaution. / Lomljivo, rukujte pažljivo. / Törékeny! Óvatosan kezelendő. / Fragile, maneggiare con cura. / Сынғыш, абайлап пайдаланыңыз. / Trapu, elkitės atsargiai. / Breekbaar, voorzichtig behandelen. / Ømtålig, håndter forsiktig. / Krucha zawartość, przenosić ostrożnie. / Frágil, Manuseie com Cuidado. / Fragil, manipulaţi cu atenţie. / Хрупкое! Обращаться с осторожностью. / Krehké, vyžaduje sa opatrná manipulácia. / Lomljivo - rukujte pažljivo. / Bräckligt. Hantera försiktigt. / Kolay Kırılır, Dikkatli Taşıyın

TriPath Imaging, Inc.
780 Plantation Drive
Burlington, NC 27215 USA

EC REP Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:
Becton Dickinson Pty Ltd.
4 Research Park Drive
Macquarie University Research Park
North Ryde, NSW 2113
Australia

U.S. Patent Number: 8,617,895.

Rovers® Cervex-Brush® is a registered trademark of Rovers Medical Devices B.V.
Cytobrush Plus® and Pap Perfect® are registered trademarks of CooperSurgical, Inc.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.