



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2019 - Año de la Exportación

Disposición

Número: DI-2019-2514-APN-ANMAT#MSYDS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Miércoles 20 de Marzo de 2019

Referencia: 1-47-3110-7208/17-9

VISTO el expediente N° 1-47-3110-7208/17-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico uso In Vitro denominado **CINtec PLUS Cytology (Catálogo N° 06889565001)**.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establecen la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso In Vitro denominado: **CINtec PLUS Cytology (Catálogo N° 06889565001)**, de acuerdo a lo solicitado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2019-10121025-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM 740-403”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta Disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscríbase en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **CINtec PLUS Cytology (Catálogo N° 06889565001)**.

Indicación de uso: ENSAYO INMUNOCITOQUÍMICO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA SIMULTÁNEA DE LAS PROTEÍNAS p16^{INK4a} Y Ki-67 EN PREPARACIONES CITOLÓGICAS CERVICALES.

Forma de presentación: ENVASES POR 100 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail p16-Ki-67 (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red AP Multimer (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Fast Red (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB HRP Multimer (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB (1 vial x 10 ml) y CINtec PLUS DAB H2O2 (1 vial x 10 ml).

Período de vida útil y condición de conservación: 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

Condición de venta: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nombre y dirección del fabricante: ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; D-68305 Mannheim. (ALEMANIA).

Expediente N° 1-47-3110-7208/17-9

av

Digitally signed by BELLOSO Waldo Horacio
Date: 2019.03.20 14:12:03 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Waldo HORACIO BELLOSO
SubAdministrador
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA,
serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2019.03.20 14:12:08 -03'00'



PROYECTO DE ROTULO

Catálogo N° 6889565 - CIntec Plus Cytology Kit

Rótulos externos:

REF 605-100 **LOT** A12345

GTN 04015630972807 **EXP** 2015-12-28

(240) D6889565001 - Roche #

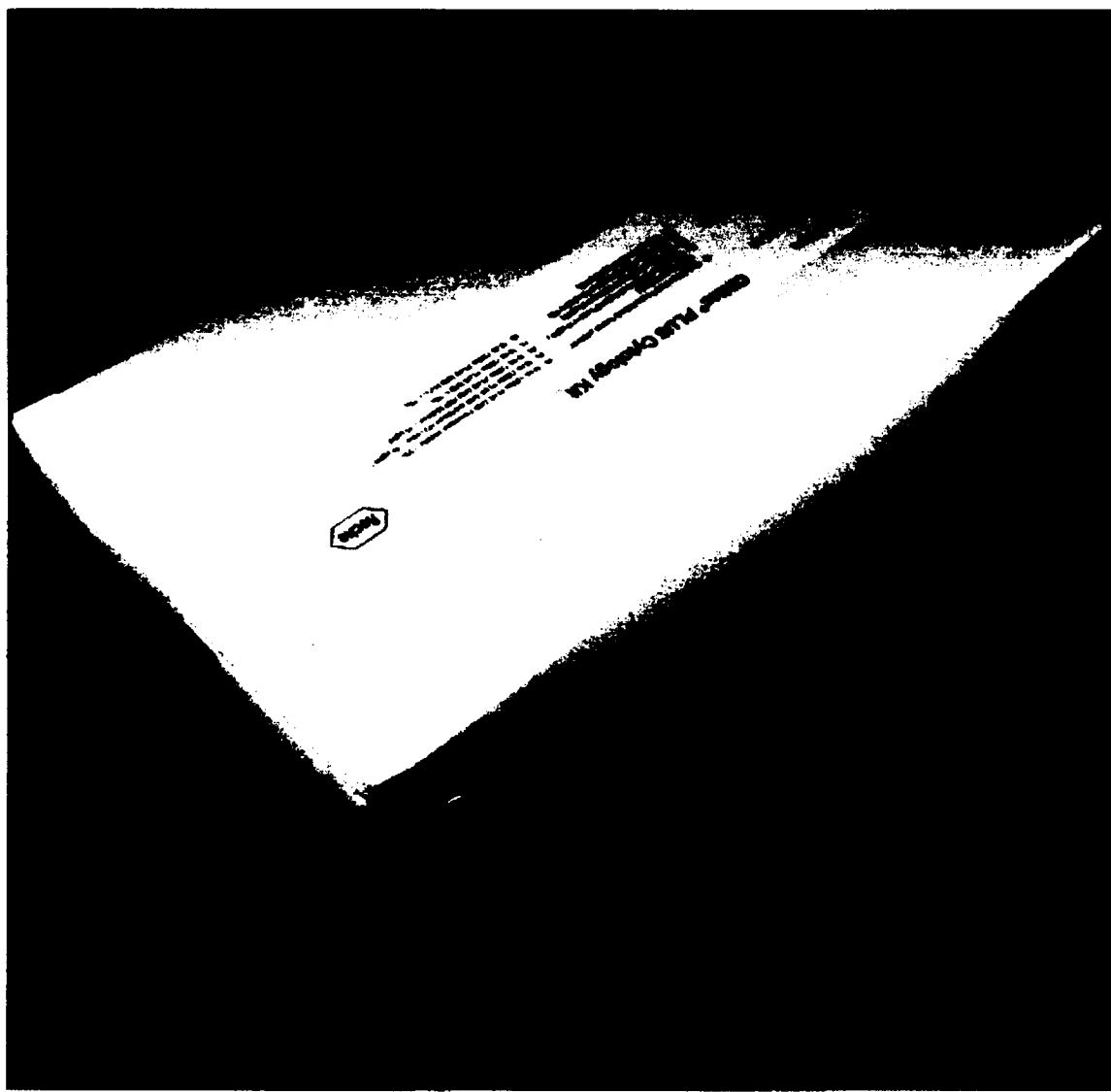

Roche

CIntec® PLUS Cytology Kit

(1) 10 mL CIntec PL (E) Primary Antibody Cocktail (110/15-07) (<5 µg/mL total antibody)	(1) 10 mL CIntec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor (<5%)
(1) 10 mL CIntec PL (E) Post-test Control NP1 solution (<10 µg/mL)	(1) 10 mL CIntec PLUS DAB and Mouse IgG Isotype (<40 µg/mL)
(1) 10 mL CIntec PLUS Post AP Adjuvant (<20 µg/mL)	(1) 10 mL CIntec PL (E) DAB HRP Substrate (<10 µg/mL)
(1) 10 mL CIntec PLUS Post heparinized Phosphate (<1%)	(1) 10 mL CIntec PLUS DAB (<1%)
(1) 10 mL CIntec PLUS Fast Fix (<1%)	(1) 10 mL CIntec PLUS DAB H ₂ O ₂ (<1%)

100 2°C 37°C CE IVD

605-100 A12345 0001



Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e.l.
DIVISION DIAGNOSTICA
CO-DT & APODERADA 101210231 APN-DNPM#ANMAT



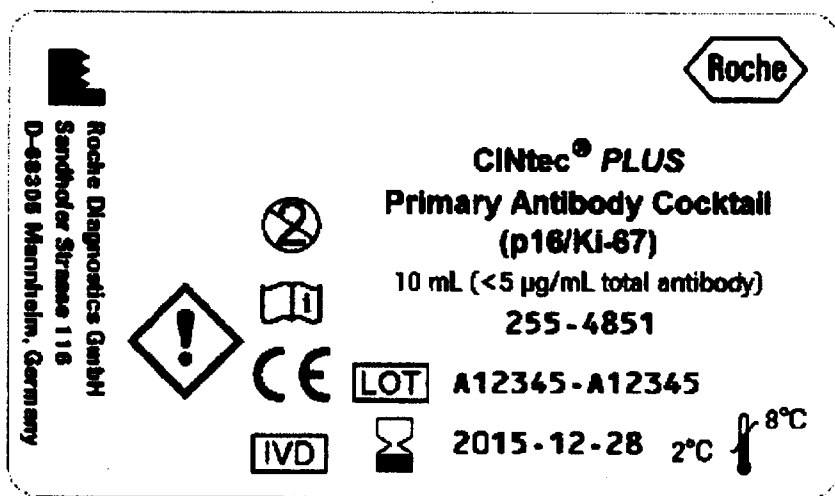
Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica
Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-740-403
Establecimiento importador:
Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).
Otto Krause 4211, Tortuguitas,
Malvinas Argentinas, Pcia. de Buenos Aires
República Argentina

Uso profesional exclusivo

Rótulos internos:

Todas las etiquetas internas de los componentes del kit presentan el siguiente diseño; ver a continuación imagen del kit completo.



ROBERTA MELE MAZZA
IF-2019-10121025-AR-00105-ROCHE S.A.Q.e.I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DOT & APODERADA LEGAL

CINtec® PLUS

CINtec® PLUS Cytology Kit

REF 605-100
06889565001


IVD  100

Figura 1. Célula epitelial cervical positiva para p16^{INK4a} (tinción citoplasmática marrón) y para Ki-67 (tinción nuclear roja)

USO INDICADO

El CINtec® PLUS Cytology Kit es un ensayo inmunocitoquímico para la detección cualitativa simultánea de las proteínas p16^{INK4a} y Ki-67 en preparaciones citológicas cervicales. Está indicado para el uso como ayuda en la identificación de mujeres con lesiones intraepiteliales cervicales de grado alto en una población de evaluación, y en los subgrupos de pacientes con un resultado de citología en la prueba de Papanicolaou de ASC-US (células escamosas atípicas de importancia indeterminada) o LSIL (lesión intraepitelial escamosa de grado bajo), o en pacientes con resultados de la prueba de HPV positivos de alto riesgo.

La interpretación de los resultados de la prueba solo puede ser llevada a cabo por un profesional certificado junto con el historial clínico de la paciente y las pruebas diagnósticas adicionales que se hayan realizado.

El producto es para uso diagnóstico *in vitro* (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

En las células eucarióticas, el control de la progresión del ciclo de división celular es regulado por un complejo patrón de expresión controlada y modificaciones post-transcripcionales de las proteínas que regulan el ciclo celular. La proteína p16^{INK4a} desempeña un papel en el mecanismo de regulación del ciclo celular eucariótico. Es parte del control mediado por la proteína del retinoblastoma (pRb) de la fase de transición G1/S y desencadena la detención del ciclo celular en el transcurso de los procesos de diferenciación celular. De este modo, p16^{INK4a} proporciona un efecto antiproliferativo durante la progresión del ciclo celular regular. En células epiteliales diferenciadas terminalmente, la expresión de p16^{INK4a} desciende a niveles normalmente no detectables mediante inmunocitoquímica [1].

Ki-67 es una proteína asociada a la proliferación que puede detectarse exclusivamente en el núcleo de las células proliferantes. Los análisis detallados del ciclo celular han revelado que el antígeno Ki-67 está presente a niveles detectables en todas las fases de la proliferación celular así como en la mitosis, mientras que las células inactivas o en reposo en la fase G0 no expresan el antígeno [2].

Como las células que sobreexpresan p16^{INK4a} pueden proliferar activamente solo cuando se altera el mecanismo de control del ciclo celular, la expresión de p16^{INK4a} y el marcador de proliferación Ki-67 dentro de la misma célula deberían excluirse mutuamente en condiciones fisiológicas normales. Por tanto, la expresión concomitante de p16^{INK4a} y Ki-67 en determinadas células puede utilizarse como marcador de la desregulación del control del ciclo celular en las células respectivas.

En la neoplasia cervical, se ha observado que se sobreexpresa notablemente p16^{INK4a} como consecuencia de la inactivación funcional de la pRb mediada por la oncoproteína E7 de tipos del papilomavirus humano de alto riesgo (HR-HPV) [3;4]. Como la E7 es necesaria para establecer y mantener un fenotipo maligno en lesiones precancerosas y cancerosas asociadas con el HPV, la sobreexpresión de p16^{INK4a} está directamente

vinculada a la actividad oncogénica de los diversos tipos de HR-HPV, y por tanto se ha propuesto como un marcador alternativo de infecciones por HPV en proceso de transformación [1;5].

Numerosos estudios han analizado y demostrado la utilidad clínica de la inmunotinción de p16^{INK4a} en la histología cervical [1;3;5;7;8;4;9;10] y la citología cervical [5;11;12]. Se ha demostrado en varios estudios que la interpretación conjunta de los portaobjetos teñidos para p16^{INK4a} aumenta significativamente la fiabilidad del interobservador así como la precisión del diagnóstico para la detección de CIN2 y lesiones de grado superior en muestras de tejido histológico cervical [6;10;12]. En la citología cervical, se ha demostrado que la inmunotinción de p16^{INK4a} proporciona una valiosa herramienta para el filtrado eficiente de los casos de citología de Papanicolaou categorizados como ASC-US o LSIL, con niveles de sensibilidad para la detección de CIN2 subyacente o lesiones peores similares a los de las pruebas del HPV, mientras que proporcionan una especificidad muy superior [12]. Además, la detección de p16^{INK4a} en muestras citológicas se ha propuesto como un valioso marcador adicional para el filtrado de las mujeres que han dado positivo para HR-HPV en el cribado de cáncer de cuello uterino [11;13].

Prácticamente todas las lesiones intraepiteliales cervicales de alto grado (es decir, CIN2, CIN3 o peores) han mostrado una sobreexpresión de p16^{INK4a} [3;6;8]. Como una alta proporción de células epiteliales dentro de las lesiones CIN muestran actividad proliferativa también, la detección de células epiteliales cervicales que expresan simultáneamente p16^{INK4a} y Ki-67 se puede utilizar como indicador de un estado transformado de la célula. Por tanto, un enfoque basado en la evaluación de muestras citológicas cervicales con respecto a la presencia de células epiteliales cervicales que muestran un resultado de tinción doble positiva para p16^{INK4a} y Ki-67 proporciona tanto alta sensibilidad como especificidad para la presencia de enfermedad precancerosa y cancerosa [14;15;16;17;18;19;20;21].

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El kit CINtec PLUS Cytology contiene un conjunto de reactivos para la detección inmunocitoquímica simultánea de las proteínas p16^{INK4a} y Ki-67 en muestras citológicas obtenidas del cuello del útero. Las proteínas se detectan utilizando un cóctel listo para usar de anticuerpos monoclonales primarios que contiene un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la proteína p16^{INK4a} humana (clon E6H4™) y un anticuerpo recombinante primario de conejo dirigido contra la proteína Ki-67 humana (clon 274-11 AC3). Tras el acondicionamiento celular, la inhibición de la actividad de la peroxidasa endógena y la incubación con el cóctel de anticuerpos primarios, el ensayo utiliza dos sistemas de detección listos para usar sobre las muestras citológicas cervicales:

- un anticuerpo secundario anti-ratón de cabra acoplado covalentemente a los haptenos HQ (hapteno patentado) y un hapteno anti-HQ, anticuerpo terciario conjugado con peroxidasa de rábano (HRP) optimizado para la detección del clon del anticuerpo de ratón monoclonal E6H4;
- un anticuerpo secundario anti-conejo de cabra acoplado covalentemente a los haptenos NP (hapteno patentado) y un hapteno anti-NP, un anticuerpo terciario conjugado con fosfatasa alcalina (AP) optimizado para la detección del clon del anticuerpo de conejo recombinante 274-11 AC3.

Las reacciones cromogénicas se basan en la conversión mediada por HRP de 3,3'-diaminobenzidina tetraclorhidrato (DAB) y la conversión mediada por AP de Fast Red con fosfato de naftol en un precipitado marrón en el sitio del antígeno p16^{INK4a} y un precipitado rojo en el sitio del antígeno Ki-67 respectivamente.

Después de la contratinción automatizada y la tinción azul, se sigue un procedimiento de montaje de dos pasos. En primer lugar, se monta el portaobjetos utilizando un medio de montaje acuoso. Posteriormente, el portaobjetos se cubre utilizando un medio de montaje permanente. Los resultados de la tinción se evalúan mediante microscopía óptica.

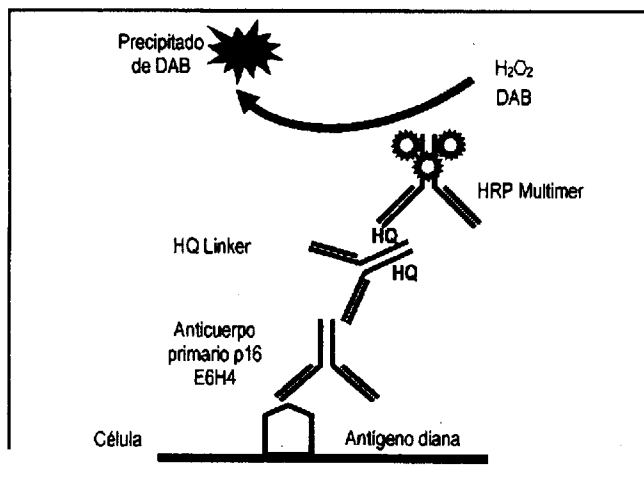


Figura 2. Detección de proteína p16^{INK4a} humana

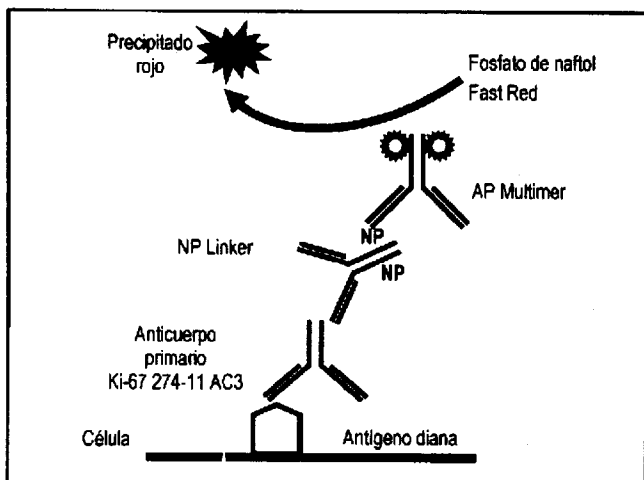


Figura 3. Detección de proteína Ki-67 humana

REACTIVOS SUMINISTRADOS

El kit CINtec PLUS Cytology contiene suficiente reactivo para realizar 100 pruebas.

Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) contiene un cóctel de clon de anticuerpo de ratón monoclonal E6H4 dirigido contra la proteína p16 ^{INK4a} humana y clon de anticuerpo recombinante primario de conejo 274-11 AC3 dirigido contra la proteína Ki-67 humana (<5 µg/ml anticuerpo total) en un tampón que contiene proteína con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker contiene IgG anti-conejo de cabra etiquetada como NP (<10 µg/ml; NP es un hapteno patentado acoplado covalentemente al anticuerpo de cabra) en un tampón que contiene proteína con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS Red AP Multimer contiene un anticuerpo terciario monoclonal de ratón de AP etiquetado como anti-NP (<20 µg/ml) en un tampón que contiene proteína con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate contiene fosfato de naftol (<1 %) con ProClin® 300, un conservante.

Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS Fast Red contiene Fast Red (<1 %) en un tampón de acetato con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor contiene una solución de peróxido de hidrógeno (<5 %).
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker contiene IgG de anti-ratón de cabra etiquetada como HQ (<40 µg/ml; HQ es un hapteno patentado acoplado covalentemente al anticuerpo de cabra) en un tampón que contiene proteína con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS DAB HRP Multimer contiene un anticuerpo terciario monoclonal de ratón de peroxidasa de rábano (HRP) etiquetado como anti-HQ (<10 µg/ml) en un tampón que contiene proteína con ProClin® 300, un conservante.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS DAB contiene 3,3'-diaminobenzidina tetraclorhidrato (<1 %) en una solución estabilizadora patentada con conservante patentado.
Un dispensador de 10 ml	CINtec PLUS DAB H ₂ O ₂ contiene peróxido de hidrógeno (<1 %) en una solución de tampón de fosfato.

RECONSTITUCIÓN, MEZCLA, DILUCIÓN, TITULACIÓN

El kit CINtec PLUS Cytology está optimizado para su uso con los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA. No se requiere la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de los reactivos del kit.

Las desviaciones de los procedimientos recomendados para la fijación y el posterior procesamiento de las muestras citológicas cervicales pueden producir variaciones sustanciales en los resultados, lo que necesitaría una ejecución regular de controles internos.

Para obtener más información acerca de los controles, consulte la sección Control de calidad.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Los siguientes reactivos y materiales pueden ser necesarios, pero no se suministran con el kit CINtec PLUS Cytology.

No todos los productos enumerados en el prospecto están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local.

1. Controles adecuados (opcional, consulte la sección Control de calidad)
2. HematoxylinContratinción
3. Bluing Reagent
4. Reaction Buffer Concentrate (10X)
5. Cell Conditioning Solutions (CC1/ ULTRA CC1)
6. Cell Conditioning Solutions (CC2/ULTRA CC2), necesario en el instrumento pero no utilizado
7. EZ Prep Concentrate (10X), necesario en el instrumento pero no utilizado
8. SSC Concentrate (10X), necesario en el instrumento pero no utilizado
9. Cubreobjetos líquido (LCS/ ULTRA LCS)
10. Etanol de grado reactivo desnaturalizado (purezza ≥ 95 %)
11. VENTANA Módulo de tinción de portaobjetos automatizado BenchMark GX, XT o ULTRA
12. Se recomiendan portaobjetos para microscopio SuperFrost® PLUS (Thermo Fisher Scientific) para frotis convencionales
13. Portaobjetos para microscopio ThinPrep® Arcless y portaobjetos para microscopio ThinPrep® FOR SPECIAL PROCESSING (n.º de pedido de Hologic 70126-002)
14. Portaobjetos BD SurePath™ (incluidos en el kit SurePath GYN)
15. Medio de montaje acuoso CC/Mount™ (P/N de Diagnostic BioSystems: K 002; P/N de Sigma-Aldrich: C9368)
16. Opcional: Homo de secado capaz de mantener una temperatura de 60 °C ± 5 °C
17. Xileno (calidad histológica)
18. Agua desionizada o destilada
19. Cubreobjetos de vidrio y medio de montaje con base de xileno o método de cubreobjetos con película plástica suficiente para cubrir preparaciones citológicas
20. Microscopio óptico
21. Lavavajillas suave



CINtec® PLUS

ALMACENAMIENTO

Almacenar entre 2 y 8 °C. No congelar. Este kit de reactivo puede utilizarse inmediatamente después de sacarlo de la nevera.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad de los reactivos, vuelva a poner el tapón después de cada uso y coloque inmediatamente los dispensadores en el frigorífico en posición vertical.

El kit CINtec PLUS Cytology tiene fecha de caducidad. Si se almacenan correctamente, los reactivos se mantendrán estables hasta la fecha indicada en la etiqueta. No use el producto después de la fecha de caducidad del método de almacenamiento prescrito. No hay signos evidentes que indiquen la inestabilidad de este producto, por lo que deben analizarse controles positivos simultáneamente con muestras desconocidas. Debe ponerse inmediatamente en contacto con el representante local si existe una indicación de inestabilidad de reactivos.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Solo para uso profesional.
3. No use el producto si el envase o alguno de sus componentes está dañado. Si el envase o sus componentes estuvieran dañados, notifíquelo a su representante local sin demora.
4. La dilución de los reactivos está optimizada, y una dilución adicional puede ocasionar una pérdida de tinción de antígenos. El usuario debe validar cualquier cambio que se produzca.
5. ProClin® 300 se utiliza como conservante. Está clasificado como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando lo manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes. Consulte la sección Reactivos suministrados para obtener una lista de los dispensadores que contienen este conservante.
6. Los materiales de origen humano o animal deben manipularse como materiales de riesgo biológico y desecharse con las precauciones adecuadas.
7. Adopte precauciones razonables cuando manipule reactivos. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Evite la inhalación de reactivos. Utilice guantes desechables y lleve ropa de protección adecuada cuando maneje materiales posiblemente tóxicos o cancerígenos. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
8. Evitar la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a unos resultados incorrectos.
9. Consulte con las autoridades locales o nacionales con respecto al método de eliminación recomendado.
10. Si se desea más información de seguridad, consultar la ficha técnica de seguridad (Safety Data Sheet) del producto y la guía de símbolos y frases sobre riesgos (Symbol and Risk Phrase Guide) en www.ventana.com.
11. Cuando maneje y deseche muestras citológicas, incluyendo todas las muestras antes y después de la fijación, así como todos los materiales expuestos a ellas, respete las precauciones de seguridad para manejar material potencialmente infeccioso así como los requisitos de desecho de residuos aplicables.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras citológicas deben manejarse de forma adecuada para conservar las muestras para los procedimientos inmunocitoquímicos. Todas las muestras deben someterse a los métodos estándar de procesamiento de células.

Para evitar elementos oscurecedores como sangre y mucosidad y garantizar que una muestra es adecuada según las directrices Bethesda, los médicos deben seguir las técnicas recomendadas para la toma de muestras [22,23].

Los siguientes métodos de preparación de muestras son adecuados para el uso con el kit CINtec PLUS Cytology:

- Portaobjetos ThinPrep® (Hologic Inc.) preparados en un ThinPrep® 2000/5000 Processor (Hologic Inc.) utilizando portaobjetos para microscopio ThinPrep® Arcless y portaobjetos para microscopio ThinPrep® FOR SPECIAL PROCESSING (n.º de pedido de Hologic 70126-002) según la recomendación del fabricante;
- Portaobjetos BD SurePath™ (BD Diagnostics Tripath) preparados según la recomendación del fabricante;
- Portaobjetos preparados manualmente (portaobjetos de frotis convencionales).

Se recomienda ejecutar los controles adecuados simultáneamente con las muestras de la paciente (consulte la sección Control de calidad para obtener más detalles).

Preparación de la muestra ThinPrep®

La muestra citológica en solución PreservCyt® destinada a la tinción inmunocitoquímica mediante el kit CINtec PLUS Cytology puede almacenarse entre 4 °C y 30 °C, y realizar el análisis en un plazo de 6 semanas desde la recogida.

Se necesitan portaobjetos para microscopio ThinPrep® Arcless y portaobjetos para microscopio ThinPrep® FOR SPECIAL PROCESSING (n.º de pedido de Hologic 70126-002) para la tinción inmunocitoquímica con el kit CINtec PLUS Cytology en módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA Benchmark GX, XT y ULTRA.

Preparación de muestras ThinPrep® con ThinPrep® 2000 Processor

Los portaobjetos ThinPrep® (Hologic Inc.) se preparan en un ThinPrep® 2000 Processor (Hologic Inc.) según las instrucciones del fabricante. Después de terminar la secuencia del ThinPrep® 2000 Processor, el portaobjeto procesado se coloca en un vial fijador con una solución de etanol de grado reactivo al $\geq 95\%$. Con cuidado, retire el vial del soporte del baño fijador del ThinPrep® 2000 Processor y transfiera el portaobjeto procesado del vial al cubo de portaobjetos con una solución de etanol de grado reactivo al $\geq 95\%$. Incube el portaobjeto en etanol durante un mínimo de 15 minutos hasta un máximo de 60 minutos. Cambie la solución de etanol en el vial fijador y el cubo de portaobjetos cada 20 portaobjetos preparados. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, retire el portaobjeto del cubo de etanol y déjelo secar horizontalmente sobre una superficie plana durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden almacenar a temperatura ambiente protegidos de la luz y se deben tefir con el kit CINtec PLUS Cytology en un plazo de 3 días desde la preparación.

Preparación de muestras ThinPrep® con ThinPrep® 5000 Processor

Los portaobjetos ThinPrep® (Hologic Inc.) se preparan en un ThinPrep® 5000 Processor (Hologic Inc.) según las instrucciones del fabricante. Después de terminar la secuencia del ThinPrep® 5000 Processor los portaobjetos procesados se colocan en una gradilla para portaobjetos con una solución de etanol de grado reactivo al $\geq 95\%$ con baño fijador. Retire con cuidado el baño fijador del ThinPrep® 5000 Processor e incube los portaobjetos durante al menos otros 15 minutos hasta un máximo de 60 minutos. Cambie la solución de etanol en el vial fijador y el cubo de portaobjetos después de cada sesión. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, retire los portaobjetos del cubo de etanol y déjelos secar horizontalmente sobre una superficie plana durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden almacenar a temperatura ambiente protegidos de la luz y se deben tefir con el kit CINtec PLUS Cytology en un plazo de 3 días desde la preparación.

Antes de la tinción inmunocitoquímica con el kit CINtec PLUS Cytology retire la etiqueta del portaobjeto original que utiliza el ThinPrep® 5000 Processor y aplique la etiqueta correspondiente generada por el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA Benchmark GX, XT o BenchMark ULTRA.

Preparación de la muestra BD SurePath™

La muestra citológica en líquido conservante SurePath™ destinada a la tinción inmunocitoquímica mediante el kit CINtec PLUS Cytology se puede almacenar hasta 4 semanas a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) o durante 6 meses en una nevera entre 2 °C y 10 °C.

Preparación de la muestra BD SurePath™ inmediatamente después del procesamiento de un portaobjeto de Papanicolaou

Una vez que se ha creado una perla de célula enriquecida para la preparación en un portaobjeto para la tinción de Papanicolaou, se puede utilizar inmediatamente para la preparación de un segundo portaobjeto para su tinción con el kit CINtec PLUS Cytology. Siga las recomendaciones del fabricante para el uso de la opción "Preparación de muestras" [opción 2] para muestras GYN en el instrumento PrepStain™. El volumen de resuspensión debe cambiarse a 0 ml en la opción de menú "Cambiar muestra/Parámetros de tinción".

Preparación de muestras BD SurePath™ a partir de una perla de célula conservada

Las perlas de célula enriquecidas se pueden guardar añadiendo aproximadamente 2 ml de líquido conservante SurePath™ y tapando los tubos de muestras para su almacenamiento (consulte las instrucciones del fabricante para obtener más detalles). Desde la fecha de recogida de la muestra, las perlas de células que se hayan suspendido de nuevo en el líquido conservante pueden guardarse hasta 4 semanas a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C), o durante 6 meses en una nevera entre 2 °C y 10 °C. Para procesar un portaobjeto para el kit CINtec PLUS Cytology, en primer lugar espere a que la muestra alcance la temperatura ambiente durante 60 minutos. Empiece con el segundo paso de centrifugación del proceso de enriquecimiento GYN y lleve a cabo los demás pasos de procesamiento restantes del modo indicado en las instrucciones del fabricante para reprocesar perlas de células conservadas. Siga las recomendaciones del fabricante para el uso de la opción "Preparación de muestras" [opción 2] para muestras GYN en el instrumento PrepStain™.

Para todas las opciones de preparación enumeradas anteriormente, retire la gradilla para portaobjetos del instrumento PrepStain™ una vez que se haya completado el paso de transferencia de la muestra. Invierta la gradilla para decantar el líquido. Pipetee 2 ml de solución de etanol de grado reactivo al $\geq 95\%$ a cada cámara de asentamiento y decante inmediatamente. Enjuague con 2 ml de solución de etanol de grado reactivo al $\geq 95\%$ una segunda vez e incube durante 10 minutos. Decante una segunda vez invirtiendo la gradilla. Retire las cámaras de asentamiento de los portaobjetos y deje que los portaobjetos se sequen horizontalmente sobre una superficie seca durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden almacenar a temperatura ambiente protegidos de la luz y se deben teñir con el kit CINtec PLUS Cytology en un plazo de 3 días desde la preparación.

Preparación de frotis convencionales

Los frotis convencionales deben fijarse con un reactivo de fijación citológica en aerosol que contenga polietilenglicol (por ejemplo, Safetex™ Cytology Fixative, Andwin Scientific) inmediatamente después de la recolección de la muestra. Los portaobjetos convencionales fijados con aerosol se pueden almacenar a temperatura ambiente protegidos de la luz y se deben teñir con el kit CINtec PLUS Cytology en un plazo de 7 días desde la preparación.

Se requiere más preprocesamiento antes de cargar los portaobjetos en los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

El kit CINtec PLUS Cytology se ha desarrollado para su uso en los módulos de tinción automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA junto con los reactivos auxiliares y accesorios de VENTANA. Consulte las tablas 1, 2 y 3 para ver los protocolos de tinción recomendados.

El kit CINtec PLUS Cytology se ha optimizado con los parámetros indicados en las tablas 1, 2 y 3; no obstante, el usuario debe validar los resultados obtenidos con este kit.

Los parámetros de los protocolos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según las instrucciones del manual del usuario para cada instrumento.

Tabla 1. Protocolo de tinción recomendado para portaobjetos ThinPrep®, SurePath™ y portaobjetos de frotis convencionales en el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA BenchMark GX utilizando Hematoxylin (P/N 760-2021) y Bluing Reagent (P/N 760-2037).

Procedimiento de tinción	GX CINtec PLUS Cytology		
Opciones seleccionables	Tipo de preparación de la muestra		
	ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otras funciones	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No es seleccionable	No es seleccionable	16 min
Tiempo inc. anticuerpo	16 min	20 min	16 min
Tiempo inc. HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Tiempo de HRP Multimer Inc	6 min	8 min	8 min
Tiempo inc. NP Linker	8 min	16 min	8 min
Tiempo inc. AP Multimer	8 min	8 min	8 min
Contratinción	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min
Contratinción	Bluing 4 min	Bluing 4 min	Bluing 4 min

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para portaobjetos ThinPrep®, SurePath™ y portaobjetos de frotis convencionales en el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA BenchMark XT utilizando Hematoxylin (P/N 760-2021) y Bluing Reagent (P/N 760-2037).

Procedimiento de tinción	XT CINtec PLUS Cytology		
Opciones seleccionables	Tipo de preparación de la muestra		
	ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otras funciones	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No es seleccionable	No es seleccionable	16 min
Tiempo inc. anticuerpo	16 min	20 min	16 min
Tiempo inc. HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Tiempo de HRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Tiempo inc. NP Linker	8 min	16 min	8 min
Tiempo inc. AP Multimer	8 min	8 min	8 min
Contratinción	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min
Contratinción	Bluing 4 min	Bluing 4 min	Bluing 4 min

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para portaobjetos ThinPrep®, SurePath™ y portaobjetos de frotis convencionales en el módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA BenchMark ULTRA utilizando Hematoxylin (P/N 760-2021) y Bluing Reagent (P/N 760-2037).

Procedimiento de tinción	U CINtec PLUS Cytology		
Opciones seleccionables	Tipo de preparación de la muestra		
	ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otras funciones	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No es seleccionable	No es seleccionable	16 min
Tiempo inc. anticuerpo	16 min	16 min	16 min
Tiempo inc. HQ Linker	12 min	16 min	12 min
Tiempo de HRP Multimer Inc	8 min	8 min	8 min
Tiempo inc. NP Linker	8 min	16 min	8 min
Tiempo inc. AP Multimer	8 min	8 min	8 min
Contratinción	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min	Hematoxylin 4 min
Contratinción	Bluing 4 min	Bluing 4 min	Bluing 4 min



CINtec® PLUS

Funcionamiento del módulo de tinción de portaobjetos automatizado BenchMark GX, XT y ULTRA

1. Aplique la etiqueta de código de barras de la lámina que corresponda al protocolo que va a realizarse.
2. Cargue los dispensadores del kit CINtec PLUS Cytology y los reactivos auxiliares necesarios en la bandeja de reactivos y colóquelos en el módulo de tinción de portaobjetos automatizado.
3. Compruebe los fluidos globales y tire los residuos.
4. Cargue los portaobjetos en el módulo de tinción automatizado.
5. Comience la sesión de tinción.
6. Cuando finalice el proceso, saque los portaobjetos del módulo de tinción automatizado.

PROCEDIMIENTO DE POST PROCESAMIENTO - MONTAJE Y COBERTURA

Para mantener una sensibilidad óptima y para evitar el desvanecimiento de cromógenos, se requiere un procedimiento de montaje de dos pasos.

Retire los portaobjetos del módulo de tinción de portaobjetos automatizado BENCHMARK GX, XT o ULTRA y agite suavemente y enjuague los portaobjetos con agua corriente, desionizada o destilada y un lavavajillas suave hasta que el cubreobjetos líquido se elimine completamente de los portaobjetos.

NOTA: Tenga cuidado de no dejar que el agua golpee directamente los portaobjetos. Deje caer el agua a una fuerza mínima.

Los portaobjetos se montarán siguiendo un protocolo de dos pasos y los siguientes pasos se llevarán a cabo de forma secuencial:

1. Montaje acuoso:
 - Incube los portaobjetos en agua destilada o desionizada durante al menos 1 min;
 - Los portaobjetos que no se vayan a cubrir deben permanecer en agua destilada o desionizada durante la aplicación del medio de montaje acuoso CC/Mount™ a los otros portaobjetos;
 - Retire un solo portaobjetos del agua destilada o desionizada y seque cuidadosamente la parte posterior con una toalla de papel para retirar el exceso de agua. No escurra ni seque el agua del lado frontal del portaobjetos (lado de la muestra);
 - Sujete el portaobjetos en ligero ángulo y aplique 4-6 gotas de medio de montaje acuoso CC/Mount™ (P/N de Diagnostic BioSystems: K 002; P/N de Sigma-Aldrich: C9368) por portaobjetos ThinPrep® o SurePath™, y 8 gotas por portaobjetos de frotis convencional. Evite la formación de burbujas de aire. Para evitar la formación de burbujas, la primera gota debe desecharse sobre una toalla de papel antes de aplicar CC/Mount™ sobre el área de preparación de la muestra del portaobjetos;
 - Gire y rote suavemente el portaobjetos de vidrio para generar una fina capa de medio de montaje que cubra totalmente el área de preparación de la muestra (no aplique aún una cubierta de vidrio o plástico); compruebe la distribución del medio de montaje sobre el portaobjetos mediante inspección visual;
 - Limpie el exceso de medio de montaje acuoso CC/Mount™ de la parte posterior y los bordes del portaobjetos. Utilice una toalla de papel húmeda si es necesario;
 - Para secarlos, coloque los portaobjetos en posición horizontal:
 - a) Incube los portaobjetos ThinPrep® o SurePath™ a 37-60 °C durante 1 hora, o si lo desea toda la noche a temperatura ambiente;
 - b) Incube los portaobjetos de frotis convencionales a 37 °C durante 4 horas, o a 60 °C durante 1 hora, o si lo desea toda la noche a temperatura ambiente.
2. Cobertura con vidrio o película:
 - Tras completar el secado del montaje acuoso CC/Mount™, espere a que los portaobjetos se equilibren a temperatura ambiente, si es necesario. Incube los portaobjetos en xileno durante un mínimo de 1 minuto y hasta un máximo de 20 minutos. A continuación, cubra los portaobjetos con cubreobjetos de vidrio utilizando un medio de montaje basado en xileno o un método de cobertura con película basada en xileno.

NOTA: Los portaobjetos no deben deshidratarse mediante series ascendentes de alcohol antes de cubrirse con vidrio o película.
 - Deje secar el medio de montaje basado en xileno a temperatura ambiente.

NOTA: Para minimizar la decoloración, proteja los portaobjetos de la luz y guárdelos a temperatura ambiente.

CONTROL DE CALIDAD

Las desviaciones respecto a los procedimientos recomendados para la fijación y el posterior procesamiento de las muestras citológicas cervicales pueden producir una variabilidad sustancial en los resultados. Los errores de funcionamiento del producto debido a problemas de manipulación o a la inestabilidad no dan como resultado signos evidentes. Por tanto, deben ejecutarse controles adecuados simultáneamente con las muestras de la paciente.

Control positivo

Como controles positivos deben utilizarse muestras procesadas de la misma manera que las muestras de la paciente. Los controles positivos son indicativos de muestras preparadas correctamente y de técnicas de tinción adecuadas. Debe incluirse un control positivo en cada sesión de tinción.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de las muestras procesadas, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de la paciente. Si los controles positivos no muestran una tinción positiva adecuada, se debe considerar que los resultados de las muestras en estudio no son válidos.

Control negativo

Una variedad de diferentes tipos de células presentes en muestras citológicas cervicales representativas y que se sepa que son negativas para la expresión de los antígenos p16^{INK4a} y Ki-67 (como células superficiales) puede servir como control negativo interno para evaluar la tinción de fondo.

Verificación del ensayo

El usuario debe verificar el rendimiento del kit CINtec PLUS Cytology en muestras positivas y negativas con características de rendimiento conocidas antes de su primer uso en un procedimiento de diagnóstico.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCCIONES / RESULTADOS PREVISTOS

La tinción del kit CINtec PLUS Cytology produce dos productos de reacción con color distintos: un precipitado marrón en los sitios del antígeno p16^{INK4a}, y un precipitado rojo en los sitios del antígeno Ki-67. La tinción marrón de las células (citoplasma y/o núcleos) indica la sobreexpresión de p16^{INK4a}. La tinción roja de células (núcleos) indica la expresión de Ki-67. Las células teñidas para ambos antígenos muestran tinción citoplasmática marrón con núcleo en rojo típicamente pronunciado. Un anatomopatólogo/citotecnólogo cualificado con experiencia en procedimientos inmunocitoquímicos y con formación en la interpretación de los portaobjetos teñidos del kit CINtec PLUS Cytology debe evaluar los controles (si se utilizan) antes de interpretar los resultados.

La interpretación de los resultados de la prueba solo puede ser llevada a cabo por un profesional certificado junto con el historial clínico de la paciente y las pruebas diagnósticas adicionales que se hayan realizado.

Para la interpretación de los portaobjetos de citología cervical teñidos con el kit CINtec PLUS Cytology, los portaobjetos deben ser evaluados en lo relativo a la presencia de células epiteliales cervicales que muestren tanto tinción marrón citoplasmática como roja nuclear, indicativas de la expresión simultánea de p16^{INK4a} y Ki-67. Además, de forma similar a los informes de resultados de la citología de Papanicolaou, las muestras deben ser evaluadas para determinar la idoneidad de la muestra según las directrices Bethesda 2001 (o TBS) [23] al informar sobre el resultado de la prueba CINtec PLUS Cytology.

Resultado positivo de la prueba

La presencia de una o varias células epiteliales cervicales con co-localización de inmunotinción citoplasmática marrón específica y de inmunotinción nuclear roja específica dentro de la misma célula se considera como un resultado positivo de la prueba CINtec PLUS Cytology.

Resultado negativo de la prueba

Si ninguna célula epitelial cervical muestra inmunotinción citoplasmática marrón e inmunotinción nuclear roja simultáneas, el resultado de la prueba CINtec PLUS Cytology se considera negativo.

La presencia de células epiteliales cervicales que muestran inmunoreactividad solo para uno y no para ambos marcadores (como tinción marrón para p16^{INK4a} solo o tinción roja para Ki-67 solo) no se considera un resultado positivo de la prueba para el kit CINtec PLUS Cytology.

LIMITACIONES

1. Solo para uso profesional. Se requiere formación especial para la realización de procedimientos inmunocitoquímicos.
2. La evaluación de portaobjetos para microscopio teñidos con el kit CINtec PLUS Cytology debe ser llevada a cabo solo por un profesional certificado que haya sido formado para interpretar estos resultados de la prueba.
3. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa debe ser evaluada dentro del contexto de la presentación clínica y los criterios citológicos.
4. La interpretación de los resultados de la tinción del kit CINtec PLUS Cytology depende de la intensidad y la calidad de la contratinción de hematoxilina. La desviación de los reactivos recomendados y los tiempos de incubación requiere la validación por parte del cliente, ya que una contratinción excesiva o incompleta puede interferir con la adecuada interpretación de los resultados.
5. Los portaobjetos de frotis convencional destinados al uso para tinción con el kit CINtec PLUS Cytology se prepararán utilizando portaobjetos de vidrio SuperFrost[®] PLUS (Thermo Fisher Scientific) y Safetex[™] Cytology Fixative (Andwin Scientific), un reactivo de fijación citológica en aerosol que contiene polietilenglicol. La desviación de estas condiciones requiere validación por parte del cliente. El uso del ThinPrep[®] 3000 Processor no se recomienda para la preparación de muestras ThinPrep[®] ya que el procedimiento de fijación con aerosol realizado por el instrumento puede conducir a una pérdida de células sustancial cuando los portaobjetos se preparan con el kit CINtec PLUS Cytology.
7. Se necesitan portaobjetos para microscopio ThinPrep[®] Ardless y portaobjetos para microscopio ThinPrep[®] FOR SPECIAL PROCESSING (n.º de pedido de Hologic 70126-002) para la tinción inmunocitoquímica de muestras ThinPrep[®] para la tinción inmunocitoquímica con el kit CINtec PLUS Cytology en módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA. Los portaobjetos para microscopio ThinPrep[®] con un área de cribado impresa pueden llevar a resultados de tinción incoherentes.
8. El fabricante proporciona estos anticuerpos/reactivos a la dilución óptima para el uso según las instrucciones proporcionadas aquí, para las pruebas inmunocitoquímicas en portaobjetos para citología de base líquida (LBC) o portaobjetos de frotis convencionales. Cualquier desviación de los procedimientos de prueba recomendados puede invalidar los resultados esperados declarados; deben emplearse y documentarse los controles apropiados. Los usuarios que no sigan los procedimientos de prueba recomendados deben responsabilizarse de la interpretación de los resultados de los pacientes en tales circunstancias.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. Si un dispensador de reactivos no dispensa el líquido, compruebe si hay partículas o materiales extraños, tales como fibras o precipitados, en la cámara de cebado o el menisco. Si el dispensador está bloqueado, no lo utilice y póngase en contacto con su representante local. De lo contrario, vuelva a cebar el dispensador dirigiéndolo hacia un recipiente de desechos, quite la tapa del inyector y presione hacia abajo la parte superior del dispensador.
2. Si el control positivo muestra una tinción más débil de la esperada, compruebe si el protocolo seleccionado coincide con el tipo de muestra específico, por ej., las preparaciones citológicas SurePath[™] requieren un tiempo de acondicionamiento celular más largo que ThinPrep[®] o las preparaciones de frotis convencionales. Además, compruebe si todos los cilindros del dispensador están limpios de residuos.
3. Si el control positivo es negativo, se debe comprobar para garantizar que el portaobjetos tiene la etiqueta de código de barras adecuada. Si el portaobjetos está etiquetado correctamente, compruebe si todos los cilindros del dispensador están limpios de residuos.
4. Si se observa un fondo excesivo, reduzca los tiempos de incubación en los protocolos de tinción. Además, compruebe si la solución a granel del tampón de reacción se formuló correctamente.
5. Si se observa un fondo débil, aumente los tiempos de incubación en los protocolos de tinción. En un portaobjetos de frotis convencional, también se puede ajustar el tiempo de incubación de acondicionamiento celular.
6. El precipitado rojo suele indicar que la expresión de la proteína Ki-67 es soluble en alcohol. Si la tinción de Ki-67 es débil o no está presente, asegúrese de que no se utilizó la hematoxilina con alcohol y de que se ha seguido el procedimiento de post-procesamiento recomendado según las instrucciones de Procedimiento de post-procesamiento - Montaje y cobertura.
7. Si la muestra se elimina al lavar el portaobjetos, los portaobjetos deben comprobarse para verificar que la muestra se preparó correctamente de acuerdo

con la sección Preparación de muestras y que se utilizó el tipo de portaobjetos de microscopio recomendado.

8. Para ver la acción correctiva, consulte la sección Procedimiento de tinción o el manual del usuario del instrumento, o póngase en contacto con el representante local.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento del kit CINtec PLUS Cytology se evaluó mediante estudios de especificidad analítica, reproducibilidad y concordancia tal como se describe en la siguiente sección.

Especificidad analítica

La especificidad analítica del kit CINtec PLUS Cytology se evaluó mediante la inhibición de los clones de anticuerpo primario E6H4 y 274-11 AC3 con los correspondientes péptidos de epitopos específicos. Se utilizaron portaobjetos para citología de base líquida (LBC) de una línea celular que sobreexpresaba ambos antígenos para evaluar el efecto de la inhibición de péptidos específicos sobre el rendimiento de la tinción para ambos anticuerpos. La unión de los anticuerpos a sus péptidos de epitopos específicos ocasionó una inhibición de los anticuerpos que se detectó mediante una tinción inferior en comparación con un control sin péptidos. Además, ninguno de los anticuerpos resultó inhibido por el péptido de epitopo específico del otro anticuerpo, lo que indica que los péptidos no específicos no inhibirán estos anticuerpos.

Reproducibilidad

Se llevaron a cabo estudios de reproducibilidad del kit CINtec PLUS Cytology para demostrar:

- La reproducibilidad entre lotes del kit CINtec PLUS Cytology;
- La reproducibilidad intraanálisis e interanálisis en módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA;
- La reproducibilidad intraplataforma en módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA;
- La reproducibilidad interplataformas entre los módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA.

Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación predeterminados.

Estudios de concordancia

El rendimiento del kit CINtec PLUS Cytology para su uso en módulos de tinción de portaobjetos automatizados VENTANA BenchMark GX, XT y ULTRA se evaluó mediante la comparación con el kit Roche mtm CINtec PLUS (dispositivo de referencia, Roche mtm laboratories AG, Mannheim) que ha demostrado anteriormente una alta sensibilidad y especificidad para la presencia de enfermedad precancerosa y cancerosa en muestras citológicas cervicales con respecto a la presencia de células epiteliales cervicales individuales que muestran un resultado de tinción doble positiva para p16^{INK4a} y Ki-67 [14;15;16;17;18;19;20;21].

Se han realizado estudios de concordancia utilizando muestras de pacientes de la población de uso prevista con un resultado de citología de Papanicolau de NILM (negativo para lesión intraepitelial o enfermedad maligna), ASC-US, LSIL y HSIL para cada uno de los diferentes métodos de preparación de citologías cervicales: ThinPrep[®] (Hologic Inc.), BD SurePath[™] (BD Diagnostics Tripath) y portaobjetos de frotis convencionales. Para muestras LBC, se prepararon dos portaobjetos de cada muestra del paciente. Para frotis convencionales, se crearon dos portaobjetos del mismo paciente en la misma visita, dividiendo el material de la muestra entre dos portaobjetos ("técnica de muestra dividida"). Se realizaron pruebas de un portaobjetos con el kit CINtec PLUS Cytology en un módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA BenchMark y se tiñó un portaobjetos con el dispositivo previamente existente.

Lectura de algoritmo para especímenes LBC:

Cada portaobjetos fue interpretado por dos lectores cualificados. Si coincidieron en el resultado, este se consideró el resultado final para ese portaobjetos. Si no coincidieron, un tercer lector realizó una lectura de adjudicación, y el resultado mayoritario fue el resultado final para ese portaobjetos.

Lectura de algoritmo para portaobjetos de frotis convencionales:

Cada portaobjetos fue interpretado por dos lectoras cualificados. Si ambos lectores puntuaron el portaobjetos como positivo, el resultado final para ese portaobjetos fue positivo. Si no coincidieron, tres lectores revisaron el portaobjetos como un panel para una revisión de consenso, y el resultado fue el resultado final para ese portaobjetos. Si ambos lectoras puntuaron el portaobjetos como negativo, el portaobjetos fue interpretado por un tercer lector para confirmar el resultado negativo. Si el tercer lector confirmó el resultado negativo, el resultado final para ese portaobjetos fue negativo. Si el tercer lector

CINtec® PLUS

puntuó el portaobjetos como positivo, el portaobjetos pasó a la revisión de panel para el consenso, que fue el resultado final para ese portaobjetos.

La concordancia de los resultados de las pruebas se notificó como porcentaje de concordancia positiva (PPA) y porcentaje de concordancia negativa (NPA) entre el kit CINtec PLUS Cytology para su uso en un módulo de tinción de portaobjetos automatizado VENTANA BenchMark, y el dispositivo de referencia.

Tabla 4. Concordancia de los resultados de las pruebas entre el kit CINtec PLUS Cytology y el dispositivo de referencia en preparaciones de portaobjetos de citología cervical ThinPrep®.

		Dispositivo de referencia (N)	
		+	-
Kit CINtec PLUS Cytology (n)	+	140	25
	-	17	147
Gesamt		157	172

PPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $140/157 \times 100\% = 89,2\%$ (83,3-93,1 %)

NPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $147/172 \times 100\% = 85,5\%$ (79,4-90,0 %)

Tabla 5. Acuerdo sobre los resultados de la prueba entre el kit CINtec PLUS Cytology y el dispositivo previamente existente en las preparaciones de citología cervical SurePath™.

		Dispositivo de referencia (N)	
		+	-
Kit CINtec PLUS Cytology (n)	+	56	3
	-	9	108
Gesamt		65	111

PPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $56/65 \times 100\% = 86,2\%$ (75,7-92,5 %)

NPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $108/111 \times 100\% = 97,3\%$ (92,4-99,1 %)

Tabla 6. Acuerdo sobre los resultados de la prueba entre el kit CINtec PLUS Cytology y el dispositivo previamente existente en las preparaciones de citología cervical de frotis convencional.

		Dispositivo de referencia (N)	
		+	-
Kit CINtec PLUS Cytology (n)	+	98	17
	-	20	72
Gesamt		118	89

PPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $98/118 \times 100\% = 83,1\%$ (75,3-88,8 %)

NPA (n/N) (intervalo de confianza del 95 %) = $72/89 \times 100\% = 80,9\%$ (71,5-87,7 %)

BIBLIOGRAFÍA

- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers*. 2007;23:315-30.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 2000;182:311-22.

- Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, et al. Overexpression of p16^{INK4a} as a specific marker for dysplasia and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer*. 2001;92:276-84.
- Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, et al. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol*. 1998;153:1741-8.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17:2536-45.
- Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. Conjunctive p16^{INK4a} testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol*. 2010;133:395-406.
- Del Pino M, Garcia S, Fusté V, et al. Value of p16^{INK4a} as a marker of progression/regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;201(5):488.
- Ordi J, Garcia S, del Pino M, et al. p16^{INK4a} immunostaining identifies occult CIN lesions in HPV-positive women. *Int J Gynecol Pathol*. 2008;28:90-7.
- Wang SS, Trunk M, Schiffman M, et al. Validation of p16^{INK4a} as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004;13:1355-60.
- Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2010;8:1077-87.
- Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, et al. Use of p16^{INK4a} over-expression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2008;9:937-45.
- Denton K, Bergeron C, Klement P, et al. The sensitivity and specificity of p16^{INK4a} Cytology versus HPV Testing for Detecting High-Grade Cervical Disease in the Triage of ASC-US and LSIL Pap Cytology Results. *Am J Clin Pathol*. 2010;134:12-21.
- Carozzi F, Gillio-Tos A, Confortini M, et al. Risk of high-grade cervical intraepithelial neoplasia during follow-up in HPV-positive women according to baseline p16^{INK4a} results: a prospective analysis of a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2013;14(2):168-76.
- Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. PALMS study group (2013). Screening for Cervical Cancer Precursors with p16/Ki-67 Dual-stained Cytology: Results of the PALMS Study. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(20):1550-7.
- Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, et al. p16/Ki-67 Dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: Results from the European Equivocal or Mildly Abnormal Pap Cytology Study (EEMAPS). *Cancer Cytopathol*. 2011;119(3):158-66.
- Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, et al. Triage of Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol*. 2011;121(3):505-09.
- Ravarino A, Nematolo S, Macciocu E, et al. CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri. *Am J Clin Pathol*. 2012;138(5):652-56.
- Singh M, Mockler D, Akalin A, et al. Immunocytochemical colocalization of p16^{INK4a} and Ki-67 predicts CIN2/3 and AIS/adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol*. 2012;120(1):26-34.
- Waldstrom M, Christensen RK, Ormskov D. Evaluation of p16^{INK4a}/Ki-67 dual stain in comparison with an mRNA human papillomavirus test on liquid-based cytology samples with low-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Cytopathol*. 2013;121(3):136-45.
- Wentzensen N, Schwartz L, Zuna RE, et al. Performance of p16/Ki-67 immunostaining to detect cervical cancer precursors in a colposcopy referral population. *Clin Cancer Res*. 2012;18(15):4154-62.
- Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. *J Low Genit Tract Dis*. 2013 Jun 11. [Epub ahead of print]
- Birdsong G, Husain M, Faison T, et al. Cervicovaginal Cytology Based on the Papanicolaou Technique; Approved Guideline- Third Edition. CLSI document GP15-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*. 2002;287:2114-9.

CINtec® PLUS



PROPIEDAD INTELECTUAL

BENCHMARK, CINtec, VENTANA, y el logotipo VENTANA son marcas comerciales de Roche.

Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2013 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany



www.ventana.com

CE



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2019 - Año de la Exportación

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2019-10121025-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Martes 19 de Febrero de 2019

Referencia: 1-47-3110-7208-17-9

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 10 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR, o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2019.02.19 13:06:27 -03'00'

Mariano Pablo Manenti
Jefe I
Dirección Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -
GDE
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,
o=SECRETARIA DE GOBIERNO DE MODERNIZACION,
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA,
serialNumber=CUIT 30715117564
Date: 2019.02.19 13:06:28 -03'00'

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO**

Expediente nº 1-47-3110-7208/17-9

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica), se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

Nombre Comercial: : **CINtec PLUS Cytology (Catálogo Nº 06889565001).**

Indicación de uso: ENSAYO INMUNOCITOQUÍMICO PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA SIMULTÁNEA DE LAS PROTEÍNAS p16^{INK4a} Y Ki-67 EN PREPARACIONES CITOLÓGICAS CERVICALES.

Forma de presentación: ENVASES POR 100 DETERMINACIONES, CONTENIENDO: CINtec PLUS Primary Antibody Cocktail p16-Ki-67 (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red anti-Rabbit NP Linker (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red AP Multimer (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS Fast Red (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB Peroxidase Inhibitor (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB anti-Mouse HQ Linker (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB HRP Multimer (1 vial x 10 ml), CINtec PLUS DAB (1 vial x 10 ml) y CINtec PLUS DAB H2O2 (1 vial x 10 ml).



Sedes y Delegaciones

Tel. (+54-11) 4340-0800 - <http://www.argentina.gob.ar/anmat> - República Argentina

Sede Central
Av. de Mayo 869, CABA

Sede Alsina
Alsina 665/671, CABA

Sede INAME
Av. Caseros 2161, CABA

Sede INAL
Estados Unidos 25, CABA

Sede Prod. Médicos
Av. Belgrano 1480, CABA

Deleg. Mendoza
Remedios de Escalada de
San Martín 1909, Mendoza
Prov. de Mendoza

Deleg. Córdoba
Obispo Trejo 635,
Córdoba,
Prov. de Córdoba

Deleg. Paso de los Libres
Ruta Nacional 117, km.10,
CO.TE.CAR., Paso de los Libres,
Prov. de Corrientes

Deleg. Posadas
Roque González 1137,
Posadas, Prov. de
Misiones

Deleg. Santa Fé
Eva Perón 2456,
Santa Fé,
Prov. de Santa Fé

Período de vida útil y condición de conservación: 12 (DOCE) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C.

Nombre y dirección del fabricante: : ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; D-68305 Mannheim. (ALEMANIA).

Condición de Venta/Categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-740-403.

Expediente Nº 1-47-3110-7208/17-9

Disposición Nº **2514**

20 MAR. 2019

Dr. Waldo Belioso
Subadministrador Nacional
ANMAT

