



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Disposición

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001426-24-0

VISTO el Expediente N° 1-0047-3110-001426-24-0 del Registro de esta Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), y:

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones Productos Roche S.A.Q. e I. solicita se autorice la inscripción en el Registro Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de esta Administración Nacional, de un nuevo/s Producto/s Médico/s para diagnóstico in vitro, Nombre descriptivo: CINtec p 16 Histology y CINtec PLUS Cytology Kit.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico in vitro 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 y normas complementarias.

Que el Instituto 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 modificatorias.

Por ello;

LA ADMINISTRADORA 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, Nombre descriptivo: CINtec p 16 Histology y CINtec PLUS Cytology Kit, de acuerdo con lo solicitado por Productos Roche S.A.Q. e I. con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Autorízanse los textos de los proyectos de rótulo/s y de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2024-56002239-APN-DVPCYAR#ANMAT .

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM 740-866 ", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

ARTÍCULO 5º.- La vigencia del Certificado de Autorización será de cinco (5) años, a partir de la fecha de la presente disposición.

ARTÍCULO 6º.- Regístrese. Inscríbese 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 CARACTERÍSTICOS

Nombre descriptivo: CINtec p 16 Histology y CINtec PLUS Cytology Kit.

Marca comercial: VENTANA

Modelos:

- 1) (N° de catálogo Roche: 06695248001, N° de catálogo Ventana: 805-4713) CINtec p 16 Histology.
- 2) (N° de catálogo Roche: 06695256001, N° de catálogo Ventana: 825-4713) CINtec p 16 Histology.
- 3) (N° de catálogo Roche: 06889565001, N° de catálogo Ventana: 605-100) CINtec PLUS Cytology Kit.

Indicación/es de uso:

1) y 2) CINtec p16 Histology es un ensayo de inmunohistoquímica para la detección cualitativa de la proteína p16INK4a en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina preparado a partir de biopsias de

cuello de útero. Está indicado para su uso junto con los portaobjetos de tinción H y E que se han preparado a partir de la misma muestra de tejido de cuello de útero como ayuda en el aumento de la precisión del diagnóstico y la concordancia entre observadores para el diagnóstico de neoplasias intraepiteliales de alto grado.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

3) El kit CINtec PLUS Cytology Kit es un ensayo de inmunohistoquímica dedicado a la detección cualitativa simultánea de las proteínas p16INK4a y Ki-67 en preparaciones de citología de cuello de útero. Se ha concebido como ayuda en la identificación de mujeres con lesiones intraepiteliales de cuello de útero de evolución rápida en los cribados de población y en subgrupos de pacientes cuyos resultados de la citología de cuello uterino (prueba de Papanicoláu) muestran la presencia de ASC-US (células escamosas atípicas de importancia no determinada) o LSIL (lesión escamosa intraepitelial de escasa malignidad) y en aquellos pacientes con resultados positivos a la prueba de VPH que indican la existencia de un alto riesgo de contraer la enfermedad.

Forma de presentación: 1) Envases por 50 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 5 ml de anticuerpo.

2) Envases por 250 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 25 ml de anticuerpo.

3) Envases por 100 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67), 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red Naphthol, un dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Fast Red, 2 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB y 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB H2O2.

Período de vida útil y condición de conservación: 1) a 3) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

1-2) Ventana Medical Systems Inc.

3) Ventana Medical Systems Inc. para Roche Diagnostics GmbH.

Lugar de elaboración:

1-2) 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755, Estados Unidos.

3) 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755, Estados Unidos para Sandhofer Strasse 116, 68305, Mannheim, Alemania.

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

1-0047-3110-001426-24-0

Nº Identificadorio Trámite: 56984

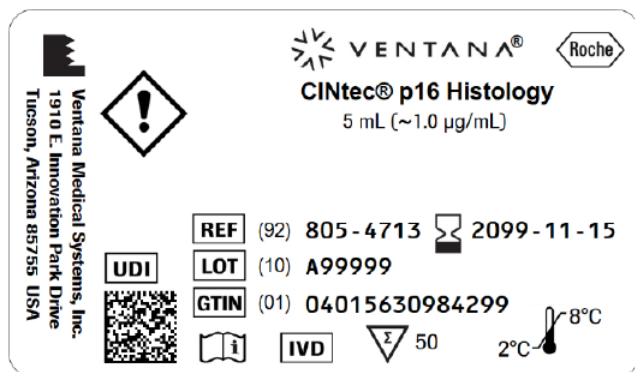
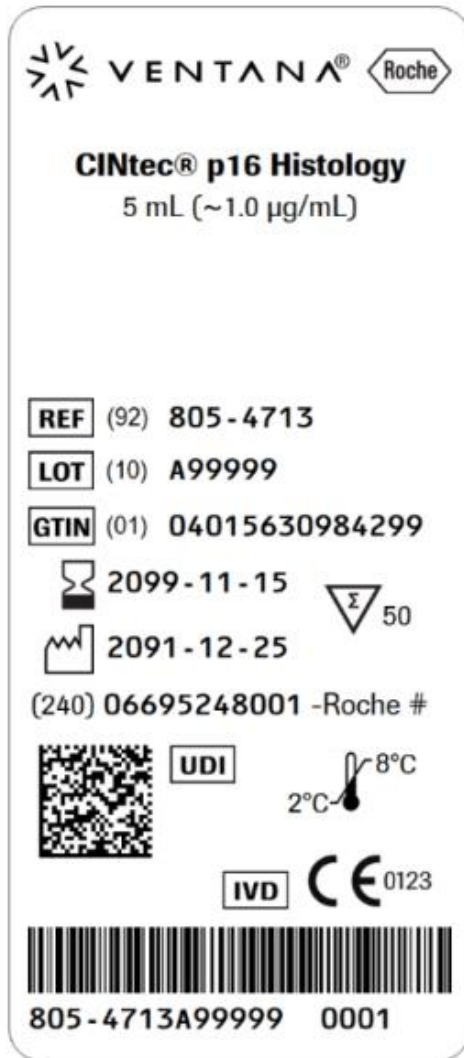
AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.03 18:29:09 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.03 18:29:16 -03:00



PROYECTO RÓTULOS Y MANUALES DE INSTRUCCIONES:

- 1) (N° de catálogo Roche: 06695248001, N° de catálogo Ventana: 805-4713) CINtec p 16 Histology.



Farm. ROBERTA MILEAZZA
PRODUCES ROCHE S.A. et.
Division Diagnostica
DT & APODIADOTLEGAL

2) (N° de catálogo Roche: 06695256001, N° de catálogo Ventana: 825-4713) CINtec p 16 Histology.



 **VENTANA**[®] 


CINtec[®] p16 Histology
25 mL (~1.0 µg/mL)

REF (92) **825-4713**



LOT (10) **A99999**


GTIN (01) **04015630984398**


 **2099-11-15**  **250**



 **2091-12-25**

(240) 06695256001 -Roche #


 **UDI**  **8°C**
2°C


IVD  **0123**


825-4713A99999 0001

 **VENTANA**[®] 



CINtec[®] p16 Histology
25 mL (~1.0 µg/mL)






REF (92) **825-4713**  **2099-11-15**

LOT (10) **A99999**

GTIN (01) **04015630984398**

 **UDI**  **8°C**
2°C

 **IVD**  **250**


Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755 USA

Farm. ROBERTA MILE MAZZA
PRODUCES ROCHE S.A. e.l.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

3) (N° de catálogo Roche: 06889565001, N° de catálogo Ventana: 605-100) CINtec PLUS Cytology Kit.

CINtec® PLUS Cytology Kit

GTIN (01) 04015630972807
LOT (10) A99999
 (17) 2099-11-15
 Roche # (240) 06889565001
REF (92) 605-100
 (11) 2091-12-25

UDI Rx Only 2°C 8°C
 100
IVD CE 0123

605-100 A99999 0001

- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail, p16/Ki-67 (< 5 µg/mL)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker (< 10 µg/mL)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer (< 20 µg/mL)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate (< 1%)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology Fast Red (< 1%)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor (< 5%)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker (< 40 µg/mL)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer (< 10 µg/mL)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB (< 1%)
- (1) 10 mL CINtec PLUS Cytology DAB H₂O₂ (< 1%)

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany

**CINtec® PLUS Cytology
DAB anti-Mouse HQ Linker**
10 mL (< 40 µg/mL)

255-4808

LOT A99999-A99999 (17) 2099-11-15

IVD 2°C 8°C

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany

**CINtec® PLUS Cytology
Red anti-Rabbit NP Linker**
10 mL (< 10 µg/mL)

255-4809

LOT A99999-A99999 (17) 2099-11-15

IVD 2°C 8°C

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany


**CINtec® PLUS Cytology
DAB HRP Multimer**
10 mL (< 10 µg/mL)

255-4850

LOT A99999-A99999 (17) 2099-11-15


IVD 2°C 8°C



Farm. ROBERTA MILLE MAZZA
 PRODUCED BY ROCHE S.A. & S.R.L.
 Division Diagnostica
 DT & APODERADA LEGAL




**CINtec® PLUS Cytology
Primary Antibody Cocktail
(p16/Ki-67)**
10 mL (< 5 µg/mL)


255-4851

LOT A99999-A99999  2099-11-15

 **IVD**  2°C-8°C






Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany




**CINtec® PLUS Cytology
Red AP Multimer**
10 mL (< 20 µg/mL)


255-4871

LOT A99999-A99999  2099-11-15

 **IVD**  2°C-8°C






Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany




**CINtec® PLUS Cytology
DAB**
10 mL (< 1%)

255-4873


LOT A99999-A99999  2099-11-15

 **IVD**  2°C-8°C




Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim, Germany



Farm. ROBERTA MILLEMOZZA
PRODUCED BY ROCHE S.A. S.p.A.
Division Diagnostica
DT & APODIAMO LEGAL




CINtec® PLUS Cytology
DAB H₂O₂
 10 mL (< 1%)

255-4874

LOT A99999-A99999  2099-11-15


 **IVD** 2°C-8°C 



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 D-68305 Mannheim, Germany




CINtec® PLUS Cytology
DAB Peroxidase Inhibitor
 10 mL (< 5%)

255-4875

LOT A99999-A99999  2099-11-15


 **IVD** 2°C-8°C 



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 D-68305 Mannheim, Germany




CINtec® PLUS Cytology
Red Naphthol Phosphate
 10 mL (< 1%)

255-4876

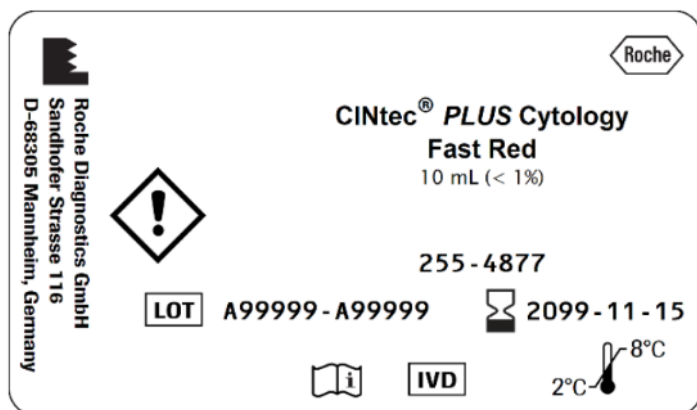
LOT A99999-A99999  2099-11-15

 **IVD** 2°C-8°C 



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 D-68305 Mannheim, Germany

Farm. ROBERTA ANILEZZA
 PRODUCES ROCHE S.A. s.r.l.
 Division Diagnostic
 DT & APODIACON LEGAL





Sobre-rótulo local:

DT.: Farm. R. Mele Mazza.
Productos Roche S.A.Q. e I.
(División Diagnóstica).
Otto Krause 4211 (CP1667)
Bs As, Arg. Producto autorizado
por ANMAT PM-740-866
Uso profesional exclusivo

Farm. ROBERTA MELE MAZZA
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DT & APODIARDA LEGAL

CINtec® p16 Histology

REF 805-4713  50
06695248001

REF 825-4713  250
06695256001

IVD

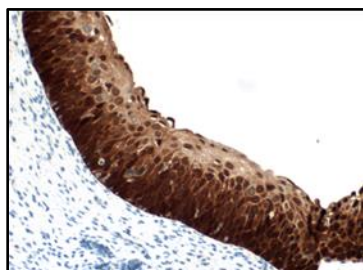


Figura 1. Tinción con CINtec p16 Histology de células epiteliales escamosas de cuello de útero.

USO PREVISTO

CINtec p16 Histology es un ensayo de inmunohistoquímica para la detección cualitativa de la proteína p16^{INK4a} en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina preparado a partir de biopsias de cuello de útero. Está indicado para su uso junto con los portaobjetos de tinción H y E que se han preparado a partir de la misma muestra de tejido de cuello de útero como ayuda en el aumento de la precisión del diagnóstico y la concordancia entre observadores para

el diagnóstico de neoplasias intraepiteliales de alto grado.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

Este anticuerpo está destinado para uso diagnóstico in vitro (IVD).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

CINtec p16 Histology está formado por un solo componente: anti-p16^{INK4a} (E6H4), un anticuerpo primario monoclonal de ratón.

La proteína p16^{INK4a} (p16) es un inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina que desempeña un papel fundamental en la progresión del ciclo celular y en la diferenciación celular.¹⁻⁴ La proteína p16^{INK4a} controla la transición a la fase G1-S inducida por la proteína del retinoblastoma (pRB) y activa la interrupción del ciclo celular durante el proceso de diferenciación celular.^{1,5} En células normales completamente diferenciadas se observan niveles bajos de expresión de p16^{INK4a}, que habitualmente no es posible detectar mediante inmunohistoquímica.^{1,5} Estudios de investigación han identificado que una fuerte sobreexpresión de p16^{INK4a} en tejidos precancerosos o cancerosos está asociada con la expresión de la oncoproteína E7 del virus del papiloma humano (VPH).^{1,3,6,7,8}

La detección mediante IHC de la sobreexpresión de p16 puede servir de ayuda en la interpretación de muestras histológicas de cuello del útero. Se ha notificado que existe sobreexpresión de la proteína p16 en células epiteliales escamosas neoplásicas del cuello del útero, mientras que se ha demostrado que suele haber ausencia de expresión en el epitelio normal y en lesiones no neoplásicas.^{1,2,5,6,7} Varios estudios han investigado la relación entre la sobreexpresión de p16 y la presencia de neoplasias intraepiteliales de cuello del útero (CIN).^{8,9} La sobreexpresión de p16 se ha observado en casi todas las lesiones CIN3, en una amplia mayoría de las lesiones CIN2 y, por lo general, en un intervalo de entre el 40 y el 60 % de las lesiones escamosas de cuello del útero que se clasifican como CIN1 en secciones de tejido teñido con H y E.⁸⁻¹³

IMPORTANCIA CLÍNICA

La interpretación diagnóstica de las muestras de biopsia de cuello del útero establece las bases para tomar las decisiones oportunas sobre el tratamiento de la paciente. CIN1 es la manifestación histológica de una infección por el VPH. En general, se recomienda que las pacientes a las que se diagnostiquen lesiones CIN1 vuelvan en un año para llevar a cabo una evaluación de seguimiento.¹⁴ En el caso de las enfermedades del cuello del útero, el umbral clínico que se utiliza más a menudo para el tratamiento es CIN2.¹⁴ Un tratamiento

mediante excisión o ablación se recomienda en el caso de pacientes con un diagnóstico de CIN2 o CIN3. Entre los riesgos que corre la paciente en edad fértil con el tratamiento de excisión se encuentran los efectos adversos en futuros embarazos.^{15,16,17} Por tanto, un diagnóstico preciso de CIN y, en concreto, de CIN2 y CIN3 es importante a la hora de gestionar las decisiones en cuanto a la paciente.¹⁸

La interpretación morfológica de la muestra de biopsia de cuello del útero mediante H y E únicamente está sujeta a la variabilidad que se produce entre observadores.¹⁸⁻²⁵ Ciertos estudios han evaluado el uso complementario de portaobjetos teñidos con p16 y el efecto sobre la fiabilidad entre observadores en la interpretación diagnóstica de las muestras de histología cervical por parte de los anatomopatólogos. En todos estos estudios, la concordancia en el diagnóstico entre los anatomopatólogos mejoró de forma significativa cuando se interpretaron los portaobjetos con tinción de p16 junto con los portaobjetos teñidos con H y E, en comparación con la interpretación únicamente de los portaobjetos con tinción H y E.^{10,11,13,21,22,26,27,28}

Asimismo, varios estudios evaluaron el efecto en la precisión del diagnóstico de la interpretación histológica del cuello de útero cuando se utilizaron portaobjetos con tinción de p16 junto con portaobjetos teñidos con H y E. Dijkstra y sus compañeros (2010) demostraron una concordancia casi perfecta en los diagnósticos que se habían establecido con la ayuda de los portaobjetos con tinción de p16 y que había interpretado un solo anatomopatólogo, en comparación con los diagnósticos adjudicados por parte de un grupo de anatomopatólogos especialistas a partir únicamente de la tinción de H y E.¹⁰ Bergeron y sus compañeros notificaron un aumento significativo en la precisión del diagnóstico cuando se incorporaban a la interpretación tanto los portaobjetos con tinción de p16 como los que se habían teñido con H y E, en comparación con la interpretación únicamente de los portaobjetos con tinción de H y E (p = 0.0004), con un incremento en la sensibilidad para ≥ CIN2 del 77 % al 87 %.¹¹ En un estudio reciente de prospección en función de la población, en el que un centro clínico académico de EE. UU. analizó más de 1450 casos consecutivos de biopsias de cuello del útero, se consideraba la tinción de p16 «una prueba diagnóstica complementaria útil y fiable a fin de diferenciar las biopsias con y sin CIN2+».¹² Por consiguiente, la interpretación complementaria de los portaobjetos con tinción de H y E conformados por secciones de biopsia de cuello del útero junto con los portaobjetos consecutivos de la misma muestra de tejido con inmunotinción de p16 tiene el potencial de mejorar de forma significativa la concordancia del diagnóstico en la interpretación de las biopsias de cuello de útero.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

CINtec p16 Histology es un anticuerpo primario monoclonal de ratón producido contra la proteína p16^{INK4a}. CINtec p16 Histology se une a la proteína p16^{INK4a} en las secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina (FFPE) y presenta un patrón de tinción nuclear y citoplasmática. El anticuerpo puede visualizarse mediante OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001) o *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001). Consulte la hoja de datos correspondiente para obtener más información.

MATERIAL SUMINISTRADO

CINtec p16 Histology (n.º cat. 805-4713 / 06695248001) contiene reactivo suficiente para 50 pruebas.

Un dispensador de 5 mL de CINtec p16 Histology contiene aproximadamente 5.0 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón.

CINtec p16 Histology (n.º cat. 825-4713 / 06695256001) contiene reactivo suficiente para 250 pruebas.

Un dispensador de 25 mL de CINtec p16 Histology contiene aproximadamente 25.0 µg de un anticuerpo monoclonal de ratón.

Este anticuerpo se diluye en un tampón formado por Tris-HCl con una proteína transportadora y ProClin 300 al 0.10 %, un conservante.

La concentración del anticuerpo específico es aproximadamente de 1.0 µg/mL. No se ha observado ninguna reactividad del anticuerpo no específica conocida en este producto.

CINtec p16 Histology es un anticuerpo recombinante monoclonal de ratón producido como sobrenadante de cultivo celular purificado.

Consulte en la hoja de datos correspondiente del kit de detección de VENTANA las descripciones detalladas de: Principio del procedimiento, Material y métodos, Recogida y preparación de muestras para análisis, Procedimientos de control de calidad, Resolución de problemas, Interpretación de los resultados y Limitaciones.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes, pero pueden ser necesarios para la tinción:

1. Tejido de control recomendado
2. Portaobjetos para microscopio con carga positiva
3. Negative Control (Monoclonal) (n.º cat. 760-2014 / 05266670001)
4. OptiView DAB IHC Detection Kit (n.º cat. 760-700 / 06396500001)
5. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (n.º cat. 760-500 / 05269806001)
6. Antibody Diluent (n.º cat. 251-018 / 05261899001)
7. EZ Prep Concentrate (10X) (n.º cat. 950-102 / 05279771001)
8. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
9. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
11. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
12. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
13. Hematoxylin II (n.º cat. 790-2208 / 05277965001)
14. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
15. Medio de montaje permanente
16. Cubreobjetos de cristal
17. Montador automático
18. Equipo de laboratorio de uso general
19. Instrumento BenchMark IHC/ISH

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvase entre 2 y 8 °C. No lo congele.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y la estabilidad del anticuerpo, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los dispensadores de anticuerpos tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el reactivo se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No usar el reactivo después de la fecha de caducidad.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Los tejidos FFPE que se procesan de forma habitual resultan adecuados para su uso con este anticuerpo primario cuando se utilizan con los kits de detección de VENTANA y los instrumentos BenchMark IHC/ISH. El fijador de tejido recomendado es formol tamponado neutro al 10 %.²⁹ Las secciones de tejido se deben cortar con un grosor aproximado de 4 µm y colocarse en portaobjetos cargados positivamente. Los portaobjetos deben teñirse inmediatamente, ya que la antigenicidad de los cortes de tejido puede disminuir con el tiempo. Solicite a su representante de servicio de Roche una copia de «Recommended Slide Storage and Handling» para obtener más información al respecto.

Se recomienda que los controles positivos y negativos se ejecuten simultáneamente con muestras desconocidas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES


1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
4. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en este reactivo. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
5. Los portaobjetos con carga positiva pueden verse afectados por presiones ambientales, dando lugar a una tinción incorrecta. Póngase en contacto con su representante de servicio de Roche para obtener más información sobre el uso de este tipo de portaobjetos.
6. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales biopeligrosos para el medio ambiente y eliminarse con las precauciones

adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{30,31}

7. Evite el contacto de los reactivos con los ojos y las membranas mucosas. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
9. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios que puede encontrar en dialog.roche.com.
10. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
11. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
12. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con las autoridades competentes del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este producto contiene componentes clasificados como sigue de conformidad con el Reglamento (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información sobre riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P261	Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Llevar guantes de protección.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
	P362 + P364	Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
	P501	Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada.

Este producto contiene CAS n.º 55965-84-9, masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

Los anticuerpos primarios VENTANA se han desarrollado para su uso en los instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los kits de detección de VENTANA y sus accesorios. Consulte Tabla 2 y Tabla 3 para ver los protocolos de tinción recomendados.

Este anticuerpo se ha optimizado para periodos de incubación específicos, pero el usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo.

Los parámetros de los procedimientos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según el procedimiento descrito en el Manual del usuario de los instrumentos. Consulte la hoja de datos del kit de detección VENTANA correspondiente para obtener más detalles sobre los procedimientos de tinción de inmunohistoquímica.

Para obtener más información sobre el uso correcto de este dispositivo, consulte la hoja de datos del dispensador en línea asociado con P/N 805-4713 o P/N 825-4713.

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo CINtec p16 Histology con *ultraView* Universal DAB Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, Estándar	CC1, Estándar	ULTRA CC1, 64 minutos, 95 °C
Anticuerpo (Primario)	24 minutos, 37 °C	16 minutos, 37 °C	20 minutos, 36 °C
ultraBlock*	8 minutos	N/A	N/A
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

* Utilice Antibody Diluent durante el paso ultraBlock.

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para CINtec p16 Histology con *OptiView* DAB IHC Detection Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Tipo de procedimiento	Método		
	GX	XT	ULTRA o ULTRA PLUS
Desparafinado	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Acondicionamiento celular (desenmascaramiento del antígeno)	CC1, 32 minutos	CC1, 48 minutos	ULTRA CC1, 48 minutos, 100 °C
Inhibidor preprimario de peroxidasa	Seleccionado	Seleccionado	Seleccionado
Anticuerpo (Primario)	8 minutos, 37 °C	8 minutos, 37 °C	12 minutos, 36 °C
Posterior a la fijación*	8 minutos	N/A	N/A
Contratinción	Hematoxylin II, 4 minutos		
Post-contratinción	Bluing, 4 minutos		

* Utilice Antibody Diluent durante el paso Post-Fixative (posterior a la fijación).

Debido a variaciones en la fijación y el procesamiento del tejido, así como a las condiciones generales de los instrumentos y del entorno del laboratorio, puede que sea necesario aumentar o disminuir el tiempo de incubación del anticuerpo primario, el acondicionamiento celular o tratamiento previo de la proteasa en función de las muestras particulares, de la detección que se haya utilizado y de las preferencias del lector. Para obtener más información sobre las variables de fijación, consulte «Immunohistochemistry Principles and Advances».³²

CONTROL DE REACTIVO NEGATIVO

Además de la tinción con CINtec p16 Histology, se debe teñir un segundo portaobjetos con el reactivo de control negativo correspondiente.

CONTROL DE TEJIDO POSITIVO

La práctica de laboratorio óptima consiste en incluir una sección de control positivo en el mismo portaobjetos que el tejido de la prueba. Esto contribuye a identificar fallos al aplicar los reactivos al portaobjetos. Un tejido con una tinción débil positiva es más adecuado para el control de calidad. El tejido de control puede contener elementos de tinción tanto positiva como negativa y ambos sirven como control positivo y negativo. El tejido de control debe ser una muestra de autopsia reciente, biopsia o cirugía preparada o fijada con la mayor brevedad con un proceso idéntico al de las secciones de prueba.

Los controles de tejido positivos conocidos solo se deben usar para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos y los instrumentos, y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras de prueba. Si los controles de tejido positivos no muestran una tinción positiva, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Como ejemplos de tejidos de control positivo para este anticuerpo se encuentran el páncreas o la amígdala normales y el carcinoma de cuello de útero.

En el tejido normal de amígdala, se observa tinción nuclear o citoplasmática de células epiteliales escamosas difuminadas principalmente en el epitelio de la cripta y de células dendríticas foliculares difuminadas en los centros germinales, así como una ausencia de tinción en la mayor parte de los linfocitos (es posible que se presente tinción en linfocitos poco frecuentes).

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

El patrón de tinción celular de CINtec p16 Histology es nuclear y citoplasmática.

La sobreexpresión del biomarcador p16^{INK4a} en muestras de biopsia de cuello de útero está representada como una tinción difusa continua de células de las capas celulares basal y parabasal del epitelio escamoso del cuello de útero, con o sin tinción del las capas celulares intermedias o intermedias a superficiales. Este patrón de tinción difuso y continuo refleja un estado de CINtec p16 Histology positivo. La tinción focal queda representada por una tinción no continua de las células aisladas o de clústers pequeños, que, en concreto, no se encuentran en las células basales ni parabasales. La tinción focal y la ausencia de tinción de p16 refleja un estado de CINtec p16 Histology negativo. El patrón de tinción de p16 y los criterios en cuanto al estado de CINtec p16 Histology se recogen en la Tabla 4.

Tabla 4. Estado de CINtec p16 Histology y patrones de tinción de p16.

Estado de CINtec p16 Histology	Patrón de tinción de p16	Descripción de la tinción
Positiva	Difusa	Tinción continua de células de las capas celulares basal y parabasal del epitelio escamoso del cuello de útero, con o sin tinción del las capas celulares intermedias o intermedias a superficiales
Negativa	Focal	Tinción de células aisladas o de pequeños clústers; es decir, una tinción no continua y, en concreto, que no se sitúe en las células basales o parabasales
	Ausencia de tinción de p16	Reacción de tinción negativa en el epitelio escamoso

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

Es posible que con CINtec p16 Histology se observe una tinción de fibroblastos y en el epitelio cilíndrico de los tejidos de cuello de útero, que no interfiere en la interpretación.

La detección mediante el sistema de detección *OptiView* es por lo general más sensible que la del sistema de detección *ultraView*. El usuario debe validar los resultados obtenidos con este reactivo y los sistemas de detección.

El tejido del paciente se debe teñir en un plazo máximo de 24 semanas a partir del corte del bloque de tejido. No se ha verificado el rendimiento de la tinción con CINtec p16 Histology en tejidos que se han almacenado a temperatura ambiente durante más de 24 semanas.

Las muestras deberían fijarse durante al menos una hora en formol tamponado neutro (NBF) al 10 %, en formol zinc o Z-fix o durante un mínimo de tres horas en AFA. El uso de diferentes tiempos de fijación o tipos de fijadores distintos que los recomendados puede dar lugar a resultados falsos negativos. Los fijadores alcohol formol o PREFER no se recomiendan para su uso con este ensayo.

Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE aNÁLISIS

Se llevaron a cabo pruebas de tinción para evaluar la sensibilidad, especificidad, precisión y exactitud y los resultados se indican a continuación.

Sensibilidad y especificidad

Se determinó la sensibilidad y especificidad analíticas mediante la tinción con CINtec p16 Histology de varios casos de tejidos humanos normales y neoplásicos. Los resultados se muestran en la Tabla 5 y la Tabla 6. En varios tejidos normales se observó la tinción de un reducido número de células o de tipos concretos de células tal y como queda anotado. Esta tinción era previsible debido a la función que desempeña la proteína p16^{INK4a} en la regulación del ciclo celular.

Tabla 5. La sensibilidad/especificidad de CINtec p16 Histology se determinó analizando tejidos normales FFPE.

Tejido	N.º de casos positivos/total	Células positivas en tejido normal
Cerebro	4/4	Neurogliocitos
Cerebelo	3/3	células de Purkinje
Glándula suprarrenal	3/3	Células epiteliales corticosuprarrenales
Ovario	3/3	Células estromales
Páncreas	3/3	Islotes de Langerhans, células acinosas
Ganglio linfático	3/3	Linfocitos, células dendríticas foliculares
Glándula paratiroidea	2/3	Células principales
Glándula pituitaria	3/3	Células epiteliales de la adenohipófisis
Testículos	3/3	Células espermatogénicas, células de Leydig
Tiroides	3/3	Células foliculares
Mama	3/3	Células mioepiteliales, células epiteliales luminales, células estromales
Bazo	3/3	Linfocitos, células dendríticas foliculares
Amígdala	6/6	Células epiteliales escamosas, linfocitos, células dendríticas foliculares
Timo	3/3	Células epitelio-reticulares, linfocitos, corpúsculos de Hassall
Médula ósea	2/3	Células mieloides
Pulmón	3/3	Neumocitos, células epiteliobronquiales
Corazón	0/3	Sin células positivas
Esófago	3/3	Células epiteliales escamosas
Estómago	3/3	Células epiteliales, glándulas fúndicas
Intestino delgado	3/3	Células epiteliales
Colon	3/3	Células epiteliales
Apéndice	0/3	Sin células positivas
Hígado	0/3	Sin células positivas

Tejido	N.º de casos positivos/total	Células positivas en tejido normal
Glándula salival	3/3	Células epiteliales de conducto estriado, células acinosas serosas
Faringe/cavidad oral	2/3	Células epiteliales respiratorias, células epiteliales de conducto estriado, células acinosas de la mucosa, células acinosas serosas
Riñón	3/3	Células epiteliales tubulares, células mesangiales glomerulares
Próstata	3/3	Células acinosas, células basales
Vejiga	3/3	Células uroteliales
Endometrio	3/3	Células glandulares endometriales, células estromales
Cuello del útero ^a	1/120	Células epiteliales escamosas
Músculo esquelético	0/3	Sin células positivas
Piel	0/3	Sin células positivas
Nervio	4/4	Células de Schwann
Mesotelio	0/3	Sin células positivas
Tejido blando	3/3	Células endoteliales, fibroblastos, células ductales

^a Entre los tejidos evaluados figuran el cuello del útero normal y la cervicitis crónica. Los casos de cuello del útero se interpretaron en función del algoritmo de puntuación de CINtec Histology, que considera la tinción de células escamosas normales (tinción focal), de células estromales y endocervicales negativa.

Tabla 6. La sensibilidad/especificidad de CINtec p16 Histology se determinó analizando una variedad de tejidos neoplásicos FFPE.

Patología	N.º de casos positivos/total
Glioblastoma (cerebro)	1/1
Meningioma (cerebro)	1/1
Ependimoma (cerebelo)	1/1
Oligodendroglioma (cerebelo)	1/1
Adenocarcinoma (cabeza y cuello)	1/1
Carcinoma de células escamosas (cabeza y cuello)	0/1
Carcinoma seroso (ovario)	1/1
Tumor de células de la granulosa (ovario)	1/1
Teratoma (ovario)	1/1
Neoplasia neuroendocrina pancreática (páncreas)	1/1
Adenocarcinoma ductal (páncreas)	1/1
Seminoma (testículos)	1/1
Carcinoma embrionario (testículos)	1/1
Carcinoma folicular (tiroides)	1/1
Carcinoma papilar (tiroides)	0/1

Patología	N.º de casos positivos/total
Carcinoma ductal in situ (mama)	1/1
Carcinoma ductal invasivo (mama)	1/1
Carcinoma lobulillar invasivo (mama)	1/1
Adenoma (glándula suprarrenal)	1/1
Feocromocitoma (glándula suprarrenal)	1/1
Linfoma difuso de linfocitos B grandes (bazo)	0/1
Adenoma pleomórfico (glándula salival)	1/1
Tumor de Warthin (glándula salival)	1/1
Carcinoma de células pequeñas (pulmón)	1/1
Carcinoma de células escamosas (pulmón)	0/1
Adenocarcinoma (pulmón)	1/1
Carcinoma de células escamosas (esófago)	0/1
Adenocarcinoma (esófago)	1/1
Adenocarcinoma (estómago)	1/1
Tumor estromal gastrointestinal (estómago)	1/1
Adenocarcinoma (intestino delgado)	0/1
Tumor estromal gastrointestinal (intestino delgado)	1/1
Adenocarcinoma (colon)	1/1
Carcinoma adenoescamoso (colon)	1/1
Tumor carcinoide (apéndice)	1/1
Carcinoma hepatocelular (hígado)	1/1
Colangiocarcinoma (hígado)	0/1
Carcinoma de células renales (riñón)	1/2
Adenoma renal papilar (riñón)	1/1
Adenocarcinoma (próstata)	2/2
Carcinoma de células claras (útero)	1/1
Carcinoma endometriode (útero)	1/1
Leiomioma (útero)	0/1
Leiomiocarcinoma (útero)	1/1
Neoplasia intraepitelial de cuello de útero I (CIN I) (cuello de útero)	12/37
CIN I-II en el límite de bajo grado frente al alto grado (cuello de útero)	2/8
CIN II (cuello de útero)	52/60
CIN II-III, alto grado (cuello de útero)	1/3
CIN III (cuello de útero)	65/67
Carcinoma de células escamosas (cuello uterino)	73/76
Carcinoma adenoescamoso (cuello de útero)	2/2

Patología	N.º de casos positivos/total
Adenocarcinoma (cuello del útero)	1/1
Carcinoma neuroendocrino (cuello de útero)	1/1
Rabdomiosarcoma alveolar (músculo)	0/1
Mixoma (músculo)	1/1
Carcinoma de células basales (piel)	1/1
Melanoma invasivo (piel)	1/1
Carcinoma de células escamosas (piel)	0/1
Schwannoma (nervio periférico)	1/1
Neurofibrosarcoma (nervios)	1/1
Linfoma anaplásico de células grandes (ganglio linfático)	1/1
Linfoma folicular (ganglio linfático)	1/1
Linfoma de Hodgkin (ganglio linfático)	1/1
Carcinoma de células uroteliales (vejiga)	1/1
Carcinoma de células escamosas (vejiga)	0/1
Plasmacitoma (extramedular)	1/1
Mesotelioma (mesotelio)	1/1
Tumor fibroso solitario pleural (mesotelio)	1/1
Angiosarcoma (tejido blando)	1/1
Liposarcoma (tejido blando)	1/1

Precisión entre instrumentos

Se llevaron a cabo dos estudios para evaluar la precisión entre instrumentos. Uno de los estudios se realizó en un instrumento BenchMark XT y un instrumento BenchMark ULTRA con *ultraView* Universal DAB Detection Kit y el segundo se llevó a cabo en un instrumento BenchMark ULTRA con *OptiView* DAB IHC Detection Kit.

En el primer estudio se tiñeron las secciones de dos bloques con varios tejidos que contenían carcinoma de células escamosas de cuello del útero, amígdala y páncreas en tres instrumentos BenchMark XT y en tres instrumentos BenchMark ULTRA con *ultraView* Universal DAB Detection Kit (5 secciones de cada bloque de varios tejidos por cada uno de los instrumentos). Las intensidades de la tinción de p16 se encontraban dentro del intervalo de 0.5 puntos de la puntuación media en el 100 % de los tejidos cuando se tiñeron con los tres instrumentos BenchMark XT. Las intensidades de la tinción de p16 se encontraban dentro del intervalo de 0.5 puntos de la puntuación media en el 100 % de los casos de carcinoma de células escamosas de cuello del útero (15/15), en el 93 % de los casos de amígdala (14/15) y en el 93 % de los casos de páncreas (14/15) al teñirse en los tres instrumentos BenchMark ULTRA. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo aceptable.

En el segundo estudio se determinó la precisión de la prueba CINtec p16 Histology en tres instrumentos BenchMark ULTRA mediante la tinción de portaobjetos replicados de 28 casos de cuello del útero (ocho de cuello del útero normal, seis CIN1, seis CIN2, cuatro CIN3 y cuatro casos de carcinoma de cuello del útero) con el kit de detección *OptiView* DAB IHC Detection Kit. Cada uno de los casos se tiñó con los tres instrumentos BenchMark ULTRA y cada uno de los tres lotes de CINtec p16 Histology. En general, nueve portaobjetos con tinción de CINtec p16 Histology de cada caso se incorporaron al estudio (tres lotes de CINtec p16 Histology, tres instrumentos BenchMark ULTRA). Cada portaobjetos con tinción de CINtec p16 Histology se emparejó posteriormente con un portaobjetos teñido con H y E del mismo caso. Se aleatorizaron los portaobjetos y, posteriormente, un solo anatomopatólogo, con los diagnósticos de los casos enmascarados, los evaluó en cuanto a las intensidades de la tinción de p16 y el estado, positivo o negativo, de CINtec p16 Histology, así como a la tinción de fondo. Los datos

demonstraron que la puntuación de la intensidad de la tinción del 97.6 % de los tejidos se encontraba dentro del intervalo de 0.5 puntos en todos los instrumentos. Asimismo, el 100 % de las secciones teñidas con CINtec p16 Histology en los tres instrumentos BenchMark ULTRA presentaban el mismo estado de CINtec p16 Histology. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo aceptable.

Además, la precisión intermedia entre instrumentos se determinó con tres instrumentos BenchMark ULTRA PLUS mediante la tinción de portaobjetos duplicados de 24 casos de tejido de cuello del útero (once de cuello del útero normal, uno CIN1, dos CIN2, siete CIN3 y tres de carcinoma de células escamosas). Los portaobjetos de la prueba se aleatorizaron y se sometieron a la evaluación de un solo anatomopatólogo con el diagnóstico del caso enmascarado en cuanto al estado positivo o negativo CINtec p16 Histology, a la morfología y a la tinción no específica (de fondo). El porcentaje de concordancia global fue del 99.3 %. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo y morfología 100 % aceptables.

Precisión entre lotes

Se evaluó la precisión entre lotes de CINtec p16 Histology mediante el análisis de tres lotes de CINtec p16 Histology en un instrumento BenchMark ULTRA con OptiView DAB IHC Detection Kit. Se teñieron por duplicado las secciones de cada una de las 26 muestras de tejido de biopsia de cuello de útero (seis muestras de cuello de útero normales, seis CIN1, seis CIN2, seis CIN3 y dos casos de carcinoma de cuello de útero) con cada uno de los lotes de CINtec p16 Histology. Cada portaobjetos con tejido teñido con CINtec p16 Histology se emparejó con un portaobjetos de H y E complementario y un portaobjetos de control de reactivo negativo del mismo caso. Los conjuntos de portaobjetos se aleatorizaron y los evaluó un solo anatomopatólogo con los diagnósticos de los casos y el número de lote enmascarados. Se determinó el estado de CINtec p16 Histology (positivo = tinción de p16 difusa; negativo = tinción focal o ausencia de tinción de p16) en función del portaobjetos con CINtec p16 Histology. Se determinaron las categorías de CIN [CIN2+ (CIN2, CIN3, adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo combinados en una sola categoría)/CIN1- (no CIN o CIN1 combinados en una sola categoría)] en función de la interpretación complementaria de los portaobjetos con H y E y CINtec p16 Histology. Los resultados demostraron la reproducibilidad de CINtec p16 Histology en los tres lotes de producción del anticuerpo. Todos los casos presentaban un 100 % de concordancia positiva y negativa del estado de CINtec p16 Histology y una concordancia del 98.7 % de la categoría CIN en los tres lotes de producción. En la Tabla 7 se resumen los datos. La tinción de fondo era aceptable en el 100 % de los tejidos con tinción.

Tabla 7. Reproducibilidad entre lotes del anticuerpo primario CINtec p16 Histology en muestras de cuello del útero con los parámetros de medida del estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) y la categoría CIN (CIN2+/CIN1-).

Reproducibilidad	Evaluación	Promedio de concordancia positiva (n/N)	Promedio de concordancia negativa (n/N)	Porcentaje de concordancia global (n/N)
Entre lotes	Estado de CINtec Histology	100.0 % (352/352)	100.0 % (264/264)	100.0 % (308/308)
	Categoría CIN	98.1 % (314/320)	98.0 % (290/296)	98.1 % (302/308)

Repetibilidad en el mismo día y precisión entre días

En total, se llevaron a cabo tres estudios para evaluar la repetibilidad en el mismo día y la precisión entre días. En los primeros dos estudios, el anatomopatólogo evaluó los tejidos en función de las intensidades de la tinción de p16 (entre 0 y 4); en el tercero, se evaluó el estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) en biopsias de cuello del útero.

En el primer estudio se teñieron las secciones de dos bloques de varios tejidos que contenían tres tejidos (carcinoma de células escamosas de cuello de útero, amígdala y páncreas) en un instrumento BenchMark XT con *ultraView* Universal DAB Detection Kit.

En el segundo estudio se teñieron las secciones de dos bloques de varios tejidos que contenían amígdala, páncreas y tres casos de cuello del útero (carcinoma invasivo de células escamosas, CIN1-, CIN2+) en un instrumento BenchMark ULTRA con OptiView DAB IHC Detection Kit. Se analizó la repetibilidad en el mismo día de CINtec p16 Histology mediante la tinción de 14 secciones replicadas de cada bloque de varios tejidos con CINtec p16 Histology. CINtec p16 Histology se consideró apto en cuanto a los criterios de aceptación con una tinción del 100 % de los tejidos dentro del intervalo de

0.5 puntos de la puntuación media de la intensidad de la tinción en ambos estudios. La precisión entre días se analizó en 5 días no consecutivos dentro de un período mínimo de 20 días. En ambos estudios, CINtec p16 Histology se consideró apto en cuanto a los criterios de aceptación con una tinción del 100 % de los tejidos dentro del intervalo de 0.5 puntos de la puntuación media de la intensidad de la tinción en la repetibilidad en el mismo día y la precisión entre días. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron un fondo aceptable.

En el tercer estudio se evaluaron 24 muestras de tejido de cuello del útero (tres casos de carcinoma de células escamosas de cuello del útero, seis CIN3, seis CIN2, seis CIN1 y tres casos normales de cuello del útero) en función de su estado CINtec p16 Histology (positivo/negativo) en un instrumento BenchMark ULTRA con OptiView DAB IHC Detection Kit. Las pruebas se realizaron en 5 días no consecutivos dentro de un período mínimo de 20 días. Cada día en que se realizaron las pruebas, se teñieron dos portaobjetos de cada caso con CINtec p16 Histology (150 portaobjetos en total) y un portaobjetos de cada caso con un control de reactivo negativo (un total de 75 portaobjetos). En cuanto a los análisis para evaluar la repetibilidad en el mismo día, se comparó el estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) en el mismo caso y entre dos réplicas evaluables del mismo día. Al tener en cuenta 5 días en el estudio, la cantidad total de comparaciones que se realizaron de cada caso para evaluar la repetibilidad en el mismo día fueron 5. La cantidad total de comparaciones del estudio de precisión entre días fue 120 = 24 casos x 5 comparaciones por caso.

Los resultados demostraron una repetibilidad del 100 % en el mismo día y una precisión entre días del 100 % al evaluar los tejidos en función del estado de CINtec p16 Histology. Todas las secciones con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo aceptable.

Además, se determinó la repetibilidad dentro del análisis mediante la tinción de 5 portaobjetos de cada uno de los 24 casos de tejido de cuello del útero (once de cuello del útero normal, una CIN1, dos CIN2, siete CIN3 y tres de carcinoma de células escamosas) en un instrumento BenchMark ULTRA PLUS. Los portaobjetos de la prueba se aleatorizaron y se sometieron a la evaluación de un solo anatomopatólogo con el diagnóstico del caso enmascarado en cuanto al estado positivo o negativo CINtec p16 Histology, a la morfología y a la tinción no específica (de fondo). El porcentaje de concordancia global fue del 97.5%. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo y morfología 100 % aceptables.

Asimismo, se determinó la precisión intermedia entre días mediante la tinción de portaobjetos duplicados de 24 casos de tejido de cuello del útero (once de cuello del útero normal, uno CIN1, dos CIN2, siete CIN3 y tres de carcinoma de células escamosas) en un instrumento BenchMark ULTRA PLUS en 5 días no consecutivos en un período de al menos 20 días. La precisión intermedia entre días fue del 98.8 %. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo y morfología 100 % aceptables.

Exactitud entre plataformas y kits de detección

La exactitud del ensayo se determinó en las plataformas BenchMark ULTRA, BenchMark XT y BenchMark GX con los kits de detección OptiView DAB IHC Detection Kit y *ultraView* Universal DAB Detection Kit. Se teñieron un total de 186 casos de cuello de útero con CINtec p16 Histology y se evaluaron su estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) y la tinción de fondo (aceptable/inaceptable). El OPA de las plataformas con el mismo kit de detección y de los kits de detección con la misma plataforma fue del 98.3-100 % en cada combinación de pares. Todos los casos con tinción de CINtec p16 Histology que se pudieron evaluar presentaron una tinción de fondo aceptable.

Además, se llevó a cabo un estudio para comparar el rendimiento de tinción de CINtec p16 Histology con OptiView DAB IHC Detection Kit en el instrumento BenchMark ULTRA PLUS frente al instrumento BenchMark ULTRA. Se teñieron ciento veinte (120) casos de tejido de cuello del útero (60 positivos en CINtec p16 Histology y 60 negativos en CINtec p16 Histology) y un anatomopatólogo evaluó los portaobjetos con tinción para determinar el estado de CINtec p16 Histology. El porcentaje de concordancia global fue del 99.1%. Todos los tejidos con tinción de CINtec p16 Histology presentaron una tinción de fondo y morfología 100 % aceptables.

Precisión del lector y entre lectores

Se evaluó la precisión del lector y entre lectores de 50 casos de cuello de útero (16 casos de cuello de útero normales, 12 CIN1, 12 CIN2, 6 CIN3 y 4 de carcinoma de cuello de útero) teñidos con CINtec p16 Histology en un instrumento BenchMark ULTRA con OptiView DAB IHC Detection Kit.

Se aleatorizaron todos los portaobjetos y, posteriormente, tres anatomopatólogos los evaluaron en cuanto al estado de CINtec p16 Histology positivo o negativo. Los

diagnósticos de los casos estaban enmascarados. Se aleatorizaron los portaobjetos con tinción de CINtec p16 Histology para someterlos a una segunda evaluación en cuanto a su estado de CINtec p16 Histology por parte de cada uno de los tres anatomopatólogos tras un periodo de reposo de cuatro semanas. El porcentaje de concordancia global tanto de la precisión del lector como de la precisión entre lectores del estado de CINtec p16 Histology fue del 98.7 %, tal y como se muestra en la Tabla 8.

En el estudio de precisión del lector y entre lectores para obtener la categoría CIN, cada uno de los portaobjetos con CINtec p16 Histology se emparejó con un portaobjetos teñido con H y E del mismo caso y se aleatorizaron los conjuntos de portaobjetos emparejados. Tres anatomopatólogos evaluaron la categoría CIN (CIN2+/CIN1-) en función de la interpretación complementaria de los portaobjetos con tinción de H y E y los teñidos con CINtec p16 Histology. Tras un periodo de reposo de al menos cuatro semanas, los pares de portaobjetos se aleatorizaron y se llevó a cabo una segunda evaluación de la categoría CIN por parte de cada uno de los tres anatomopatólogos. Los datos que aparecen en la Tabla 8 muestran que el porcentaje de concordancia global de la precisión del lector y entre lectores para evaluar la categoría CIN fue del 98.0 % y del 90 % respectivamente.

Tabla 8. Precisión del lector y entre lectores del ensayo CINtec p16 Histology en muestras de cuello del útero con los parámetros de medida del estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) y la categoría CIN (CIN2+/CIN1-).

Precisión del lector	Evaluación	Promedio de concordancia positiva (CI del 95 %)	Promedio de concordancia negativa (CI del 95 %)	Porcentaje de concordancia global (CI del 95 %)
En mismo lector	Estado de CINtec p16 Histology	98.7 % (93.9-100.0 %)	98.6 % (93.0-100.0 %)	98.7 % (94.0-100.0 %)
	Categoría CIN	97.4 % (89.1-100.0 %)	98.4 % (92.6-100.0 %)	98.0 % (92.0-100.0 %)
Entre lectores	Estado de CINtec p16 Histology	98.7 % (93.1-100.0 %)	98.6 % (92.3-100.0 %)	98.7 % (93.9-100.0 %)
	Categoría CIN	87.0 % (71.8-97.6 %)	91.9 % (83.0-98.5 %)	90.0 % (80.0-98.0 %)

Estudio de reproducibilidad (estudio de precisión entre laboratorios)

Se llevó a cabo un estudio de reproducibilidad entre laboratorios para demostrar la reproducibilidad del ensayo CINtec p16 Histology para establecer el estado de CINtec p16 Histology y la categoría CIN mediante el análisis de 27 casos de cuello de útero (10 casos no CIN, 5 CIN1, 5 CIN2, 5 CIN3 y 2 de carcinoma de cuello de útero) en tres instrumentos BenchMark ULTRA en cada uno de los tres días no consecutivos y en tres laboratorios externos. Las muestras se aleatorizaron y un total de seis anatomopatólogos (dos anatomopatólogos por sitio) las evaluaron en cuanto a su estado de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) y a la categoría CIN (CIN2+/CIN1-) en función de la interpretación complementaria de portaobjetos teñidos con H y E y con tinción de CINtec p16 Histology. Los diagnósticos de los casos estaban enmascarados. Los resultados del estado de CINtec p16 Histology y de la categoría CIN se muestran en la Tabla 9 y la Tabla 10 respectivamente. Asimismo, los índices de aceptabilidad de la tinción de fondo y de la morfología en el caso de los seis anatomopatólogos en todos los sitios fueron del 96.3 % y del 97.1 %. Los datos indican una excelente concordancia en la reproducibilidad del ensayo en todos los sitios, los días y los anatomopatólogos.

Tabla 9. Reproducibilidad entre laboratorios: concordancia del estados de CINtec p16 Histology (positivo/negativo) de las muestras de cuello de útero.

Índices de concordancia de la reproducibilidad entre laboratorios (Estado de CINtec p16 Histology)	Promedio de concordancia positiva	Promedio de concordancia negativa	Porcentaje de concordancia global
Entre sitios (3 sitios)	96.2 % (91.2-99.3 %)	93.9 % (86.3-99.0 %)	95.3 % (90.6-99.2 %)

Índices de concordancia de la reproducibilidad entre laboratorios (Estado de CINtec p16 Histology)	Promedio de concordancia positiva	Promedio de concordancia negativa	Porcentaje de concordancia global
Entre días (3 días no consecutivos)	98.2 % (95.9-99.7 %)	97.1 % (93.3-99.5 %)	97.8 % (95.5-99.5 %)
Entre lectores (2 anatomopatólogos por sitio)	95.5 % (87.8-100.0 %)	92.9 % (82.6-100.0 %)	94.4 % (87.1-100.0 %)

Tabla 10. Reproducibilidad entre laboratorios: concordancia en la categoría CIN (CIN2+/CIN1-) de las muestras de cuello del útero en función de la interpretación complementaria de los portaobjetos con tinción H y E y teñidos con CINtec p16 Histology.

Índices de concordancia de la reproducibilidad entre laboratorios (Categoría CIN)	Promedio de concordancia positiva	Promedio de concordancia negativa	Porcentaje de concordancia global
Entre sitios (3 sitios)	94.4 % (86.8-98.8 %)	94.1 % (86.7-98.6 %)	94.3 % (88.5-98.6 %)
Entre días (3 días no consecutivos)	96.9 % (93.1-99.2 %)	96.6 % (93.0-99.1 %)	96.8 % (94.0-99.1 %)
Entre lectores (2 anatomopatólogos por sitio)	95.0 % (87.4-98.9 %)	94.8 % (88.6-98.9 %)	94.9 % (89.3-98.7 %)

RENDIMIENTO CLÍNICO

Concordancia en el diagnóstico

Se llevó a cabo el estudio CERvical Tissue Adjunctive aNalysis (CERTAIN) para demostrar que la lectura complementaria de los resultados de CINtec p16 Histology mejora la coherencia del diagnóstico de las neoplasias intraepiteliales de cuello del útero (CIN) y los niveles de concordancia entre las lecturas de Community Pathologists (CP) (Anatomopatólogos de la comunidad [CP]) y de Expert Pathologists (XP) (Anatomopatólogos especialistas [XP]) de tejido de cuello de útero extraído con biopsia por punción.

El estudio clínico CERTAIN se llevó a cabo con 1100 muestras de cuello de útero FFPE extraídas mediante biopsia por punción y recogidas de modo retroactivo, que representan a la población de colposcopia de referencia. Se estableció un diagnóstico de referencia derivado de XP en cada caso de estudio mediante portaobjetos únicamente con tinción de H y E y mediante portaobjetos teñidos con H y E y con CINtec p16 Histology. Dos XP establecieron sus diagnósticos de forma independiente (no CIN, CIN1, CIN2, CIN3, adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo) en función de los portaobjetos teñidos con H y E de cada uno de los 1100 casos. Se facilitó a los anatomopatólogos la siguiente información clínica: edad del paciente, resultado de la citología de Papanicolaou y resultado de la prueba del VPH (si estaba disponible). Un tercer XP evaluó los casos discordantes. Durante una reunión de revisión de adjudicación, en la que participaron los tres XP, se revisaron aquellos casos en los que no se alcanzó un diagnóstico mayoritario por parte de dos de los tres anatomopatólogos. Los resultados mayoritarios (o por consenso) se establecieron como Diagnóstico de referencia de los especialistas para cada uno de los casos que se evaluaron en el estudio (denominado diagnóstico de referencia XP1 o H y E). Tras un periodo mínimo de reposo de cuatro semanas, los mismos XP evaluaron tanto los portaobjetos teñidos con H y E como los que contenían tinción de CINtec p16 Histology para establecer un diagnóstico: no CIN; histología LSIL/CIN1; histología HSIL/CIN2; histología HSIL/CIN3; adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo (denominados diagnóstico de referencia XP2 o H y E + CINtec p16 Histology). El proceso para establecer el diagnóstico mayoritario fue el mismo que el que se había utilizado para establecer el diagnóstico de referencia únicamente con los portaobjetos con tinción H y E. En el estudio participaron setenta (70) CP acreditados de Estados Unidos. En la primera ronda, (Ronda 1, CP1), se dividieron los 1100 casos con tinción de H y E en cuatro conjuntos de lectura de 275 casos con distribuciones

equivalentes de las categorías de diagnóstico individuales por diagnóstico de referencia. Se asignaron los 70 CP a cuatro grupos conformados por 17 o 18 anatomopatólogos por grupo. En cada uno de los casos del conjunto de lectura que se les había asignado, se facilitó a los anatomopatólogos la siguiente información clínica: edad del paciente, resultado de la citología de Papanicolaou y resultado de la prueba del VPH (si estaba disponibles). Los CP presentaron su diagnóstico de forma independiente del portaobjetos con tinción H y E de cada uno de los casos que tenían asignados: no CIN; CIN1; CIN2; CIN3; adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo. La lectura de cada uno de los casos de estudio la llevaron a cabo de forma individual o 17 o 18 anatomopatólogos de la comunidad.

En la segunda ronda (Ronda 2, CP2), los CP llevaron a cabo la lectura de los portaobjetos con tinción de H y E junto con los portaobjetos correspondientes emparejados teñidos con CINtec p16 Histology del mismo conjunto de casos de su conjunto de casos asignado. Tras un periodo mínimo de reposo de cuatro semanas entre las Rondas 1 y 2, cada anatomopatólogo presentó de forma independiente su diagnóstico: no CIN; histología LSIL/CIN1; histología HSIL/CIN2; histología HSIL/CIN3, adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo. Los CP anotaron el estado de CINtec p16 Histology (CINtec p16 Histology positivo = tinción difusa de p16; CINtec p16 Histology negativo = tinción focal o ausencia de tinción de p16) junto con su diagnóstico histológico mediante el portaobjetos teñido con H y E y el portaobjetos que contenía tinción CINtec p16 Histology. El objetivo principal del estudio era demostrar el aumento de la concordancia en el diagnóstico sin que se viera comprometido el porcentaje de concordancia positiva, es decir, la probabilidad de que un resultado positivo de la prueba coincida con un diagnóstico \geq CIN2 (CIN2, CIN3, adenocarcinoma in situ o carcinoma invasivo combinados en una sola categoría) o \leq CIN1 (no CIN o CIN1 combinados en una sola categoría) en función de los portaobjetos teñidos con H y E (Ronda 1) en comparación con la interpretación de los portaobjetos con tinción H y E junto con los portaobjetos teñidos con CINtec p16 Histology (Ronda 2).

Aumento de la exactitud del diagnóstico de los anatomopatólogos especialistas

Se determinó el aumento de la exactitud del diagnóstico de los anatomopatólogos especialistas mediante la comparación del diagnóstico de referencia de los anatomopatólogos especialistas con H y E (XP1) con el diagnóstico de referencia de los mismos anatomopatólogos con H y E y CINtec p16 Histology (XP2). El análisis se llevó a cabo mediante la interpretación de las 1100 biopsias de cuello de útero. El aumento en la exactitud del diagnóstico entre el diagnóstico de referencia de los anatomopatólogos especialistas con H y E y el diagnóstico de referencia de los anatomopatólogos especialistas con H y E y CINtec p16 Histology se muestra en la Tabla 11. Al utilizar la tinción H y E y CINtec p16 Histology en la interpretación del diagnóstico de las biopsias de cuello del útero, los XP identificaron un 23.7 % más de casos \geq CIN2 en comparación con la interpretación diagnóstica únicamente de la tinción H y E.

Tabla 11. Concordancia entre el diagnóstico de referencia con H y E y el diagnóstico de referencia con H y E y CINtec p16 Histology en todos los casos.

		Diagnóstico de referencia con H y E					Total
		Núm. de CIN	CIN1	CIN2	CIN3	ACIS* o cáncer	
Diagnóstico de referencia H y E + CINtec p16 Histology	Núm. de CIN	693	13	4	0	0	710
	Histología LSIL	46	120	4	1	0	171
	HISTOLOGIA HSIL	30	31	83	69	1	214
	ACIS* o cáncer	0	0	0	0	5	5
Total		769	164	91	70	6	1100

* ACIS: adenocarcinoma in situ

Interpretación de los anatomopatólogos de la comunidad con H y E frente a la interpretación con H y E y CINtec p16 Histology en comparación con el diagnóstico de referencia de los anatomopatólogos especialistas con H y E

La concordancia en el diagnóstico entre los anatomopatólogos de la comunidad se determinó mediante la comparación de los resultados de diagnóstico con H y E de la Ronda 1 de los anatomopatólogos de la comunidad (CP1) con los diagnósticos de referencia con H y E de los anatomopatólogos especialistas (XP1) y los diagnósticos con H y E + CINtec p16 Histology de la Ronda 2 de los anatomopatólogos de la comunidad (CP2) con los diagnósticos de referencia con H y E de los anatomopatólogos especialistas (XP1). Los índices de concordancia y los intervalos de confianza (CI) promedio de los casos y los lectores se muestran en la Tabla 12. Se observó un aumento estadístico significativo en PPA, la medida de la detección de las lesiones \geq CIN2 (+6.8 % con un CI del 95 %: del 4.7 % al 9.0 %). Asimismo, se incrementó el porcentaje de concordancia negativa (NPA) en la detección de \leq CIN1 en un 1.3 % con un CI del 95 %: del 0.5 % al 2.3 %.

Tabla 12. Índices de concordancia positiva y negativa de las lecturas de los anatomopatólogos de la comunidad con portaobjetos teñidos con H y E frente a portaobjetos con tinción H y E y CINtec p16 Histology con el diagnóstico de referencia con H y E de los anatomopatólogos especialistas (XP1).

Criterio de valoración	H y E	H y E + CINtec p16 Histology	Diferencia	Valor p
PPA % (CI del 95 %)	83.5 % (79.9, 86.8)	90.3 % (87.5, 92.7)	6.8 % (4.7, 9.0)	< .0001
NPA % (CI del 95 %)	90.4 % (89.4, 91.4)	91.8 % (90.6, 92.9)	1.3 % (0.5, 2.3)	0.0032

Nota: La diferencia no es igual a 1.4 % por un error de redondeo: H y E = 90.44 %, H y E + CINtec Histology = 91.76 %, Diferencia = 1.32 %.

En la Figura 2 se muestra un gráfico de resumen de la exactitud del diagnóstico individual de los lectores anatomopatólogos de la comunidad en los diagnósticos \geq CIN2 frente a \leq CIN1 únicamente con portaobjetos teñidos con H y E frente al uso de portaobjetos con tinción de H y E y CINtec p16 Histology en comparación con el diagnóstico de referencia con H y E de los anatomopatólogos especialistas. Se muestra el PPA y el NPA (porcentaje de concordancia negativa, es decir, la concordancia de un resultado de prueba negativo con \leq CIN1 de XP1) de la interpretación de cada anatomopatólogo de la Ronda 1 (solo portaobjetos teñidos con H y E: círculos azules) frente a la Ronda 2 (portaobjetos con tinción de H y E junto con portaobjetos teñidos con CINtec p16 Histology: triángulos rojos). Las elipses de predicción indican el intervalo de rendimiento de PPA y NPA previsto para la mayoría de los anatomopatólogos: El 80 % debería encontrarse dentro de las elipses y el 20 % fuera de ellas. Este gráfico demuestra que la interpretación de biopsias de cuello del útero con portaobjetos con tinción H y E junto con portaobjetos teñidos con CINtec p16 Histology aumenta la concordancia en el diagnóstico y reduce la variabilidad entre lectores.

Farm. ROBERTA NILE MAZZA
PRODUCES LOS ROCHES S.A de I.
Divisione Diagnostica
DT & APOLOGIA LEGAL

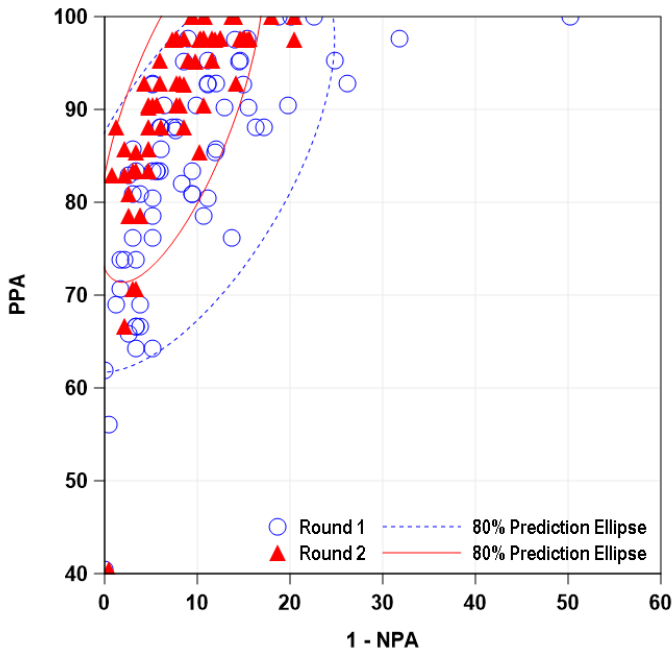


Figura 2. Gráfico de resumen de la concordancia en el diagnóstico (PPA frente a 1-NPA) de anatomopatólogos de la comunidad para el diagnóstico de \geq CIN2 frente a \leq CIN1 únicamente con H y E (Ronda 1) y con H y E + CINtec p16 Histology (Ronda 2) en comparación con el diagnóstico de referencia con H y E de los anatomopatólogos especialistas (XP1) (el 80 % de las elipses de predicción se han creado bajo la hipótesis de una normalidad con dos variables).

Interpretación de los anatomopatólogos de la comunidad con H y E frente a la interpretación con H y E y CINtec p16 Histology en comparación con el diagnóstico de referencia de los anatomopatólogos especialistas con H y E + CINtec p16 Histology

A continuación, la lectura de los resultados por parte de los anatomopatólogos de la comunidad con ambos métodos (H y E + CINtec p16 Histology frente a H y E únicamente) se comparó con el diagnóstico de referencia (XP2) que habían establecido los ginecopatólogos especialistas con portaobjetos con tinción H y E y CINtec p16 Histology. Los anatomopatólogos especialistas no conocían los resultados de su primera ronda de lectura individual ni el diagnóstico de referencia con H y E consensuado. El proceso para establecer el diagnóstico consensuado fue el mismo que para establecer el diagnóstico de referencia con H y E mencionado anteriormente.

Los resultados de la lectura de los anatomopatólogos de la comunidad utilizando únicamente los portaobjetos con tinción de H y E frente a los resultados con portaobjetos teñidos con H y E y CINtec p16 Histology se analizaron y compararon con los diagnósticos de referencia con H y E y con CINtec p16 Histology de los anatomopatólogos especialistas (Tabla 13). Estos datos demuestran un incremento estadístico significativo en el PPA (+11.5 % con un CI del 95 %: del 9.3 % al 13.5 %) y en el NPA (+3.0 % con un CI del 95 %: del 2.2 % al 3.7 %).

Tabla 13. Índices de concordancia positiva (PPA) y negativa (NPA) de las lecturas de los anatomopatólogos de la comunidad con portaobjetos teñidos con H y E frente a portaobjetos con tinción H y E y CINtec p16 Histology con el diagnóstico de referencia con H y E y CINtec p16 Histology de los anatomopatólogos especialistas (XP2).

Parámetro	H y E	H y E + CINtec p16 Histology	Diferencia	Valor p
PPA	73.3 %	84.8 %	11.5 %	< .0001
% (CI del 95 %)	(69.6, 76.9)	(82.1, 87.1)	(9.3, 13.5)	
NPA	92.2 %	95.2 %	3.0 %	< .0001
% (CI del 95 %)	(91.3, 93.1)	(94.4, 96.0)	(2.2, 3.7)	

En la Figura 3 se muestra un gráfico de resumen de la exactitud del diagnóstico individual de los lectores anatomopatólogos de la comunidad en los diagnósticos \geq CIN2 frente a \leq CIN1 únicamente con portaobjetos teñidos con H y E frente al uso de portaobjetos con tinción de H y E junto con portaobjetos teñidos con CINtec p16 Histology en comparación con el diagnóstico de referencia con H y E + CINtec p16 Histology de los anatomopatólogos especialistas. Se muestran tanto el PPA como el NPA de la interpretación de la Ronda 1 de cada anatomopatólogo (solo con H y E: círculos azules) frente a la de la Ronda 2 (con H y E y CINtec p16 Histology: triángulos rojos). Las elipses de predicción indican el intervalo de rendimiento de PPA y NPA previsto para la mayoría de los anatomopatólogos: El 80 % debería encontrarse dentro de las elipses y el 20 % fuera de ellas. Este gráfico demuestra que la interpretación de biopsias de cuello del útero con portaobjetos con tinción H y E junto con portaobjetos teñidos con CINtec p16 Histology aumenta la coherencia del diagnóstico y reduce la variabilidad entre lectores.

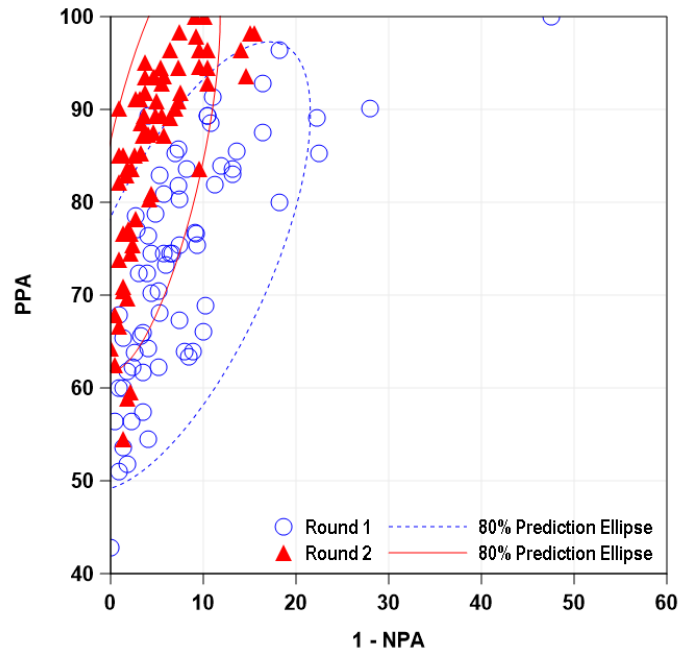


Figura 3. Gráfico de resumen de la concordancia en el diagnóstico (PPA frente a 1-NPA) de anatomopatólogos de la comunidad para el diagnóstico de \geq CIN2 frente a \leq CIN1 únicamente con H y E (Ronda 1) y con H y E y CINtec p16 Histology (Ronda 2) en comparación con el diagnóstico de referencia con H y E y CINtec p16 Histology de los anatomopatólogos especialistas (XP2) (el 80 % de las elipses de predicción se han creado bajo la hipótesis de una normalidad con dos variables).

Rendimiento de tinción de CINtec p16 Histology

El objetivo secundario del estudio evaluó el rendimiento de tinción del ensayo CINtec p16 Histology tal y como lo determinaron los anatomopatólogos de la comunidad durante la revisión de los portaobjetos del estudio. Setenta (70) anatomopatólogos de la comunidad

Farm. ROBERTA WILSON
 PRODUCTOS ROCHÉ S.A. de C.V.
 División Diagnóstico
 DE & APODERADA LEGAL

presentaron un total de 19250 interpretaciones del estado de CINtec p16 Histology durante el estudio. Los criterios de rendimiento de la tinción que se evaluaron fueron los siguientes: aceptabilidad general de la tinción, aceptabilidad de la tinción de fondo y aceptabilidad de la morfología. Los resultados demostraron un índice de aceptabilidad > 99 % en todos los criterios de tinción (Tabla 14).

Tabla 14. Rendimiento de tinción de CINtec p16 Histology.

Parámetro	Número de interpretaciones n/N	Tasa
Aceptabilidad de la tinción	19074/19250	99.09 %
Aceptabilidad de la morfología	19249/19250	99.99 %
Aceptabilidad de la tinción de fondo	19249/19250	99.99 %

Conclusiones

El uso de portaobjetos con tinción CINtec p16 Histology que complementen la interpretación de los portaobjetos teñidos con H y E aumenta la concordancia en el diagnóstico en la detección de lesiones CIN de alto grado (\geq CIN2) en las biopsias por punción de cuello de útero. Este aumento en la concordancia se debe tanto al incremento en el PPA (la concordancia de un resultado de prueba positivo con un diagnóstico \geq CIN2) y en el NPA (la concordancia de un resultado de prueba negativo con un diagnóstico CIN1 o no CIN). Asimismo, se incrementa la coherencia de los diagnósticos entre los anatomopatólogos de la comunidad entre sí y en comparación con un grupo de especialistas.

REFERENCIAS

- 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;153:1741-1748.
- Negri G, Egarter-Vigl E, Kasal A, et al. p16INK4a is a useful marker for the diagnosis of adenocarcinoma of the cervix uteri and its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:187-193.
- von Knebel Doeberitz M, Vinokurova S. Host factors in HPV-related carcinogenesis: cellular mechanisms controlling HPV infections. *Arch Med Res.* 2009;40(6):435-442.
- Voorhoeve PM, Agami R. The tumor-suppressive functions of the human INK4A locus. *Cancer Cell.* 2003;4:311-319.
- 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;92:276-284.
- Negri G, Vittadello F, Romano F, et al. p16INK4a expression and progression risk of low-grade intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Virchows Arch.* 2004;445:616-620.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. *Dis Markers.* 2007;23(4):315-330.
- Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:2536-2545.
- Tsompou I, Arbyn M, Kyrgiou M, et al. p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and metaanalysis. *Cancer Treat Rev.* 2009;35:210-220.
- Dijkstra MG, Heideman DA, de Roy SC, et al. p16(INK4a) immunostaining as an alternative to histology review for reliable grading of cervical intraepithelial lesions. *J Clin Pathol.* 2010;63(11):972-977.
- Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, et al. European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing highgrade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol.* 2010;133:395-406.
- Galgano MT, Castle PE, Atkins KA, et al. Using biomarkers as objective standards in the diagnosis of cervical biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:1077-1087.
- Stoler MH, Wright TC, Ferenczy A, et al. Routine Use of Adjunctive p16 Immunohistochemistry Improves Diagnostic Agreement of Cervical Biopsy Interpretation. *Am J Surg Pathol.* 2018;42(8):1001-1009.
- Massad LS, Einstein M, Huh W, et al. 2012 Updated Consensus Guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013;17:S1-S27.
- Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, et al. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: metaanalysis. *BMJ.* 2008;337:a1284.
- Albrechtsen S, Rasmussen S, Thoresen S, et al. Pregnancy outcome in women before and after cervical conisation: population based cohort study. *BMJ.* 2008;337:a1343.
- Sadler L, Safflas A, Wang W, et al. Treatment for cervical intraepithelial neoplasia and risk of preterm delivery. *JAMA.* 2004;291:2100-2106.
- Park KJ, Soslow RA. Current concepts in cervical pathology. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(5):729-738.
- Stoler MH, Schiffman M. Atypical squamous cells of undetermined significance-lowgrade squamous intraepithelial lesion triage study (ALTS) group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL triage study. *JAMA.* 2001;285:1500-1505.
- Stoler MH, Ronnett BM, Joste NE, et al. New Mexico HPV Pap registry steering committee. The interpretive variability of cervical biopsies and its relationship to HPV status. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(6):729-736.
- Klaes R, Benner A, Friedrich T, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:1389-1399.
- Reuschenbach M, Wentzensen N, Dijkstra MG, et al. p16INK4a immunohistochemistry in cervical biopsy specimens: A systematic review and metaanalysis of the interobserver agreement. *Am J Clin Pathol.* 2014;142(6):767-772.
- De Vet HCW, Knipschild PG, Schouten HJA, et al. Interobserver variation in histopathological grading of cervical dysplasia. *J Clin Epidemiol.* 1990;43:1395-1398.
- Creagh T, Bridger JE, Kupek E, et al., Pathologist variation in reporting cervical borderline epithelial abnormalities and cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol.* 1995. 48(1): p. 59-60.
- Ceballos KM, Chapman W, Daya D, et al., Reproducibility of the histological diagnosis of cervical dysplasia among pathologists from 4 continents. *Int J Gynecol Pathol.* 2008. 27(1): p. 101-107.
- Gurrola-Díaz CM, Suárez-Rincón AE, Vázquez-Camacho G, et al. p16INK4a immunohistochemistry improves the reproducibility of the histological diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia in cone biopsies. *Gynecol Oncol.* 2008;111:120-124.
- Horn LC, Reichert A, Oster A, Arndal SF, et al. Immunostaining for p16INK4a used as a conjunctive tool improves interobserver agreement of the histologic diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 2008;32:502-512.
- Sayed K, Korourian S, Ellison DA, et al. Diagnosing cervical biopsies in adolescents: the use of p16 immunohistochemistry to improve reliability and reproducibility. *J Low Genit Tract Dis.* 2007;11:141-146.
- Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
- Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
- Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Farm. ROBERTA NELLE VIOZZA
 PRODUCED BY ROCHÉ S.A. (e.l.)
 DIVISION Diagnostic
 DT & APOTECARY LEGAL

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en dialog.roche.com la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificación única del dispositivo



Indica la entidad que ha importado el producto sanitario en la Unión Europea

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
G	Se han actualizado las secciones Resumen y explicación, Importancia clínica, Principio del procedimiento, Material suministrado, Materiales necesarios pero no suministrados, Almacenamiento y estabilidad, Preparación de muestras, Advertencias y precauciones, Procedimiento de tinción, Control de reactivo negativo, Control de tejido positivo, Interpretación de las tinciones y resultados previstos, Limitaciones específicas, Rendimiento de análisis, Rendimiento clínico, Referencias, Símbolos, Propiedad Intelectual e Información de contacto. Se ha añadido el instrumento BenchMark ULTRA PLUS.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC, OPTIVIEW, *ultraView* y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

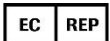
© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA
+1 520 887 2155
+1 800 227 2155 (USA)

www.roche.com



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606



Farm. ROBERTA MILEZZA
PRODUTTORES ROCHE S.p.A. e l.
Divisione Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

CINtec® PLUS Cytology Kit

REF

605-100

06889565001

IVD

Σ 100

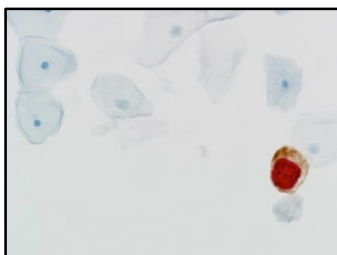


Figura 1. Célula epitelial de cuello de útero positiva en p16INK4a (tinción citoplasmática marrón) y en Ki-67 (tinción nuclear roja).

(células escamosas atípicas de importancia no determinada) o LSIL (lesión escamosa intraepitelial de escasa malignidad) y en aquellos pacientes con resultados positivos a la prueba de VPH que indican la existencia de un alto riesgo de contraer la enfermedad.

La interpretación de los resultados de la prueba únicamente debe estar a cargo de un profesional con certificación y debe llevarse a cabo teniendo en cuenta el historial clínico del paciente y el resto de pruebas diagnósticas que se hayan realizado.

Este 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 está regulado por un patrón complejo de expresión controlada y de modificaciones postraduccionales de las proteínas que regulan el ciclo celular. La proteína p16INK4a desempeña una función esencial en el mecanismo de regulación del ciclo de las células eucariotas. Está implicada en el control inducido por la proteína del retinoblastoma (pRb) de la transición de la fase G1/S y activa la detención del ciclo celular durante los procesos de diferenciación celular. Por tanto, p16INK4a facilita el efecto antiproliferativo durante la evolución del ciclo celular normal.¹ En las células epiteliales diferenciadas terminalmente, la expresión de p16INK4a se reduce a niveles que habitualmente no es posible detectar con la inmunocitoquímica (ICC).²

En las displasias de cuello de útero, la sobreexpresión de p16 se considera un biomarcador indirecto de las infecciones de VPH con transformación, ya que refleja la activación de la proliferación de células VPH inducida por la oncoproteína E6/E7.^{2,3,4,5} La detección de p16 en las preparaciones de citología de cuello de útero se ha presentado como un útil marcador complementario para llevar a cabo la clasificación de mujeres cuyos resultados en las citologías de cuello de útero se consideran anómalos y aquellas con resultados positivos en la prueba del VPH.^{3,4,5} No obstante, dado que la tinción específica de p16 puede aparecer en células metaplásicas o endocervicales en las que la expresión de p16 puede detectarse mientras ejerce su función fisiológica normal de represión del crecimiento celular, durante la interpretación de las preparaciones de citología de cuello de útero con una sola tinción de p16 es necesario identificar las células inmunoreactivas a p16, que deberán clasificarse en mayor profundidad teniendo en cuenta los indicios de anomalías morfológicas.^{2,3,4}

La detección combinada y simultánea de p16 y del marcador de proliferación Ki-67 en la misma célula mediante ICC ha demostrado ser una herramienta de gran utilidad en la identificación de las células displásicas de cuello de útero en las preparaciones de citología sin necesidad de acudir a la interpretación morfológica.^{3,7,8} Ki-67 es una proteína nuclear y nucleolar asociada exclusivamente a la proliferación celular y que no es posible detectar mediante los métodos de inmunotinción estándar en las células en reposo (G0).⁶ En circunstancias fisiológicas normales, la expresión de la proteína Ki-67 asociada a la proliferación y la de la proteína p16, que evita la proliferación, son recíprocamente excluyentes. En cambio, las células en las que la vía inducida por la

proteína del retinoblastoma (pRb) que controla la progresión del ciclo celular se encuentra desactivada antes de la función supresora de tumores de p16 (como en las células epiteliales con expresión de las oncoproteínas de alto riesgo del VPH E6/E7) pueden proliferar y, por tanto, es posible observar la expresión de Ki-67 en presencia de p16 funcional.^{2,3}

De este modo, la detección de células individuales en preparaciones de citología de cuello de útero en las que se observa la expresión de p16 y la de Ki-67 de forma simultánea puede servir de indicador independiente de la morfología de células que contienen una anomalía en la regulación del ciclo celular. Esta expresión conjunta de p16 y Ki-67 puede ser útil como indicador de la presencia de infecciones de VPH con transformación y de neoplasias intraepiteliales de cuello de útero preexistentes.^{2,3} Recientemente, se han llevado a cabo y se han publicado estudios en los que se evaluaba la utilidad y la importancia clínicas de la citología con tinción doble de p16 y Ki-67 en la identificación de aquellas mujeres a las que podría beneficiar la derivación a colposcopia en función de diferentes resultados de cribado del cáncer de cuello de útero primario. Entre estos resultados figuran el triaje de mujeres con resultados de citología Papanicoláu Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) o Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), las mujeres con resultados positivos en VPH de alto riesgo en el cribado principal de VPH o las mujeres con resultados positivos en VPH/Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM) en entornos clínicos en los que se emplea la prueba conjunta de citología Papanicoláu y VPH durante el cribado principal.⁷⁻²⁵

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

CINtec PLUS Cytology Kit contiene un conjunto de reactivos para la detección inmunocitoquímica simultánea de las proteínas p16INK4a y Ki-67 en muestras de citología que se han extraído del cuello de útero. Las proteínas se detectan mediante una combinación de anticuerpos primarios monoclonales lista para su uso que contiene un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la proteína p16INK4a humana (clon E6H4™) y un anticuerpo primario recombinante de conejo dirigido contra la proteína Ki-67 humana (clon 274-11AC3V1). Tras el acondicionamiento celular, la inhibición de la actividad peroxidasa endógena y la incubación con la combinación de anticuerpo primario, en el ensayo se utilizan dos sistemas de detección preparados y optimizados para su uso con las muestras citológicas de cuello de útero:

- Un anticuerpo secundario anti-ratón de cabra unido mediante enlace covalente a haptenos de hidroxiquinoxalina (HQ) (hapteno patentado) y un anticuerpo terciario con hapteno anti-HQ conjugado con peroxidasa de rábano (HRP) optimizado para la detección del clon de anticuerpo monoclonal de ratón E6H4;
- Un anticuerpo secundario anti-conejo de cabra unido mediante enlace covalente a haptenos de NP (hapteno patentado) y un anticuerpo terciario con hapteno anti-NP conjugado con fosfatasa alcalina (AP) optimizado para la detección del clon de anticuerpo recombinante de conejo 274-11AC3V1;

Las reacciones cromógenas tienen su base en la conversión inducida por HRP de 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina (DAB) y la conversión inducida por AP de Fast Red con Naphthol Phosphate que da lugar a un precipitado de color marrón en el sitio del antígeno p16INK4a y de un precipitado de color rojo en el sitio del antígeno Ki-67.

Tras una contratinción y un azulado automáticos, se lleva a cabo un procedimiento de montaje de dos pasos. Primero, es preciso montar el portaobjetos con un medio de montaje acuoso. Posteriormente, se coloca un cubreobjetos en el portaobjetos con un medio de montaje permanente. Los resultados de la tinción se deben evaluar mediante inspección de microscopía óptica.

Farm. ROBBIA S.p.A. S.p.A. S.p.A.
PRODOTTO DA ROBBIA S.p.A. S.p.A. S.p.A.
Divisione Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

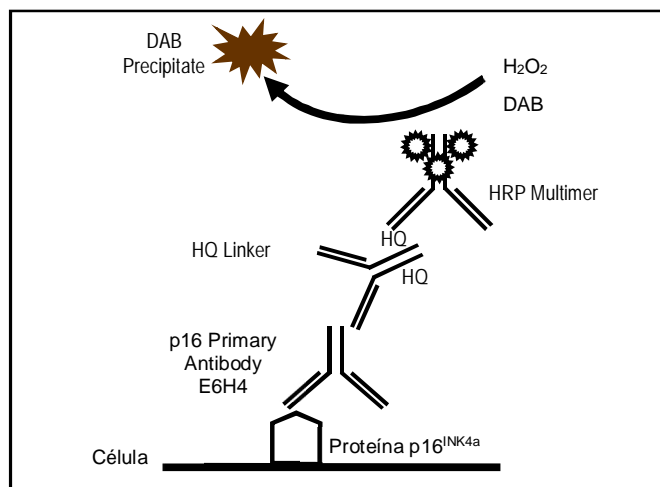


Figura 2. Detección de la proteína p16INK4a humana.

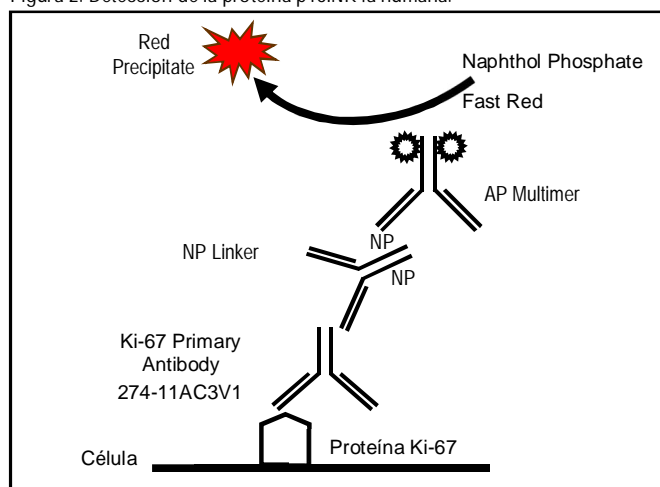


Figura 3. Detección de la proteína Ki-67 humana.

MATERIAL SUMINISTRADO

CINtec PLUS Cytology Kit contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.

Un dispensador de 10 mL	CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67) contiene una combinación del clon del anticuerpo monoclonal de ratón E6H4 dirigido contra la proteína p16INK4a humana y del clon del anticuerpo primario recombinante de conejo 274-11AC3V1 dirigido contra la proteína Ki-67 humana (total de anticuerpo < 5 µg/mL) en un tampón con proteína y ProClin 300, un conservante.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker contiene IgG de cabra anti-conejo marcado con NP (< 10 µg/mL; NP es un hapteno patentado con unión covalente al anticuerpo de cabra) en un tampón con proteína y el conservante ProClin 300.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer contiene un anticuerpo terciario monoclonal de ratón anti-NP marcado con AP (< 20 µg/mL) en un tampón con proteína y ProClin 300, un conservante.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology Red Naphthol Phosphate contiene Naphthol Phosphate (< 1%) y el conservante ProClin 300.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology Red Fast Red contiene Fast Red (< 1%) en tampón acetato y el conservante ProClin 300.

Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor contiene una solución de peróxido de hidrógeno (< 5 %).
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker contiene IgG de cabra anti-ratón marcado con HQ (< 40 µg/mL; HQ es un hapteno patentado con unión covalente al anticuerpo de cabra) en un tampón con proteína y el conservante ProClin 300.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer contiene un anticuerpo terciario monoclonal de ratón anti-HRP marcado con HQ (< 10 µg/mL) en un tampón con proteína y el conservante ProClin 300.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology DAB contiene 3,3'-tetracloruro de diaminobencidina (< 1 %) en una solución estabilizadora patentada con un conservante también patentado.
Un dispensador de 10 mL	de CINtec PLUS Cytology DAB H ₂ O ₂ contiene peróxido de hidrógeno (< 1 %) en una solución de tampón fosfato.

RECONSTITUCIÓN, MEZCLA, DILUCIÓN Y TITULACIÓN

El kit CINtec PLUS Cytology Kit se ha optimizado para su uso con los instrumentos BenchMark IHC/ISH. No son necesarias la reconstitución, la mezcla, la dilución ni la titulación de los reactivos del kit.

Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos recomendados de fijación o de procesamiento de muestras de citología de cuello de útero pueden dar lugar a una variabilidad significativa en los resultados, por lo que es necesario llevar a cabo controles internos de forma periódica.

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

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

No se suministran reactivos de tinción como los kits de detección de VENTANA ni componentes auxiliares, incluyendo portaobjetos de control de tejido negativos y positivos.

No todos los productos que aparecen en la hoja de datos están disponibles en todos los lugares. Consulte al representante local de asistencia técnica de Roche.

No se suministran los reactivos y materiales siguientes en el kit de detección, pero son necesarios para la tinción:

1. Controles correspondientes (opcional; consulte la sección de Control de calidad)
2. Hematoxylin Counterstain (n.º cat. 760-2021 / 05266726001)
3. Bluing Reagent (n.º cat. 760-2037 / 05266769001)
4. Reaction Buffer Concentrate (10X) (n.º cat. 950-300 / 05353955001)
5. Cell Conditioning Solution (CC1) (n.º cat. 950-124 / 05279801001)
6. Cell Conditioning Solution (CC2) (n.º cat. 950-123 / 05279798001)
7. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (n.º cat. 950-224 / 05424569001)
8. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC2) (n.º cat. 950-223 / 05424542001)
9. LCS (Predilute) (n.º cat. 650-010 / 05264839001)
10. ULTRA LCS (Predilute) (n.º cat. 650-210 / 05424534001)
11. Reagent Grade Ethanol desnaturalizado (pureza ≥ 95 %)
12. Instrumento BenchMark IHC/ISH
13. Se recomienda el uso de portaobjetos de microscopio Superfrost Plus (Thermo Fisher Scientific) en los frotis convencionales
14. Portaobjetos para microscopio ThinPrep Arcless (Hologic, ref. 70126-002) o portaobjetos para microscopio Superfrost Plus (VWR, ref. 48311-703)
15. Roche Cell Collection Medium (ref. 07994753190)
16. PreservCyt® Solution (Hologic, ref. 234004)
17. Portaobjetos BD SurePath PreCoat (incluidos en el kit GYN SurePath)
18. SurePath™ Preservative Fluid (BD, ref. 490522)
19. Medio de montaje acuoso CC/Mount Roche ref. 7342098001; Diagnostic BioSystems P/N: K 002; Sigma-Aldrich P/N: C9368)
20. Opcional: Horno de secado capaz de mantener una temperatura de 60 °C ± 5 °C
21. Equipo de laboratorio de uso general

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Tras la recepción y cuando no se utilice, consérvase de 2 a 8 °C. No lo congele. El usuario debe validar cualquier condición de almacenamiento que no se especifique en la hoja de datos. Este kit de detección se puede utilizar de inmediato tras extraerlo del refrigerador.

Para garantizar una dispensación adecuada del reactivo y su estabilidad, vuelva a poner el tapón del dispensador después de cada uso y almacene inmediatamente el dispensador en la nevera, en posición vertical.

Todos los kits de detección tienen una fecha de caducidad. Si se almacena correctamente, el producto se mantendrá estable hasta la fecha indicada en la etiqueta. No utilice el producto después de la fecha de caducidad del método de conservación prescrito. No existen indicios absolutamente precisos de la inestabilidad de este producto, por tanto, es necesario analizar simultáneamente un control positivo con las muestras desconocidas. Debe ponerse en contacto de inmediato con el representante local de asistencia técnica de Roche si observa el menor indicio de inestabilidad del reactivo.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso diagnóstico in vitro (IVD).
2. Solo para uso profesional.
3. PRECAUCIÓN: En Estados Unidos, las normas nacionales restringen la venta de este dispositivo a médicos autorizados o por orden de estos. (Rx Only)
4. No utilizar por encima del número especificado de ensayos.
5. No utilice el producto si el embalaje o cualquiera de sus componentes están dañados. Si detecta que el embalaje o los componentes han podido sufrir algún daño o no se encuentran intactos, notifíquese a su representante local de asistencia técnica de Roche de inmediato.
6. La solución ProClin 300 se utiliza como conservante en esta solución. Está clasificada como irritante y puede ocasionar sensibilización por contacto con la piel. Adopte precauciones razonables cuando la manipule. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Utilice ropa protectora y guantes.
7. Los materiales de origen animal o humano deben manipularse como materiales potencialmente biopeligrosos y eliminarse con las precauciones adecuadas. En caso de exposición, deberán seguirse las directivas sanitarias de las autoridades responsables.^{29,30}
8. Adopte las precauciones razonables cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de reactivos con los ojos, la piel y las membranas mucosas. Evite la inhalación de los reactivos. Utilice guantes y póngase el equipo de protección personal cuando vaya a manipular material tóxico y sustancias posiblemente carcinógenas.
9. Si los reactivos entran en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante.
10. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, dado que podría dar lugar a resultados incorrectos.
11. Para obtener más información sobre el uso de este dispositivo, consulte el Manual del usuario del instrumento BenchMark IHC/ISH y las instrucciones de uso de todos los componentes necesarios, que puede encontrar en dialog.roche.com.
12. Consulte a las autoridades locales o nacionales sobre el método de eliminación recomendado.
13. Cuando se vayan a manipular muestras citológicas o a eliminarlas, incluidas todas las muestras antes y después de la fijación, así como todos los materiales que se encuentran expuestos a ellas, respete las precauciones de seguridad en materia de manipulación de material posiblemente infeccioso, así como los requisitos de eliminación de residuos aplicables.
14. El etiquetado de seguridad de los productos sigue principalmente las directrices del SGA de la UE. Está disponible bajo petición la hoja de datos de seguridad para los usuarios profesionales.
15. Para comunicar la sospecha de incidentes graves relacionados con este dispositivo, póngase en contacto con su representante local de servicio Roche y con la autoridad competente del Estado o País Miembro de residencia del usuario.

Este kit de detección contiene componentes clasificados como sigue de acuerdo con la Normativa (CE) n.º 1272/2008:

Tabla 1. Información de riesgos.

Riesgo	Código	Declaración
	H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
	H350	Puede provocar cáncer.
	H412	Perjudicial para los organismos acuáticos con efectos nocivos duraderos.
	P201	Antes de utilizarlo, obtenga las instrucciones especiales oportunas.
	P261	Evite inhalar la niebla o los vapores.
	P273	Evitar su emisión al medio ambiente.
	P280	Lleve guantes y prendas de protección, así como protección auditiva y para el rostro.
	P308 + P313	Si se sufre una exposición importante: Consultar a un médico.
	P333 + P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras citológicas se deben manipular de forma adecuada para conservarlas de cara a los procedimientos inmunocitoquímicos. Todas las muestras deben someterse a los métodos estándar de procesamiento celular.

Para evitar que no se vean ciertos elementos, como la sangre y la mucosa, y garantizar que la muestra es adecuada según las directrices de Bethesda Guidelines³¹, los médicos deben seguir las técnicas de muestreo recomendadas.

Los siguientes métodos de preparación de portaobjetos son aptos para su uso con CINtec PLUS Cytology Kit:

- Portaobjetos ThinPrep (Hologic Inc.) preparados en ThinPrep 2000 o 5000 Processor (Hologic Inc.) con portaobjetos ThinPrep Arcless Microscope o Superfrost Plus en función de la recomendación del fabricante;
- Portaobjetos BD SurePath (BD Diagnostics) preparados según la recomendación del fabricante.
- Portaobjetos preparados de forma manual (portaobjetos de frotis convencionales)

Se recomienda analizar los controles correspondientes y las muestras del paciente de forma simultánea (consulte la sección de Control de calidad para obtener detalles más precisos).

Preparación de muestras con Roche Cell Collection Medium

Las muestras citológicas que se encuentran en Roche Cell Collection Medium (RCCM) destinadas a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit se pueden conservar a una temperatura de entre 15 y 30 °C durante seis semanas y durante otras 12 semanas más si se congelan a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Es necesario el uso de portaobjetos ThinPrep Arcless Microscope o Superfrost Plus en la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Preparación de portaobjetos con muestras recogidas de Roche Cell Collection Medium mediante ThinPrep 2000 Processor

Los portaobjetos se preparan con muestras recogidas de Roche Cell Collection Medium mediante ThinPrep 2000 Processor. Una vez que haya terminado la secuencia del procesador ThinPrep 2000 Processor el portaobjetos procesado debe asentarse en un vial de fijación con una solución de etanol de grado de reactivo $\geq 95\%$. Retire el vial del soporte de la solución fijadora de ThinPrep 2000 Processor y traspase el portaobjetos procesado del vial a un recipiente portaobjetos que contenga una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$. Incube el portaobjetos en etanol durante al menos 15 minutos y nunca más de 60. Remplace la solución de etanol del vial fijador y de la cubeta de portaobjetos después de haber llevado a cabo 20 preparaciones de portaobjetos. Una vez que haya finalizado el periodo de incubación, retire el portaobjetos de la solución de etanol y colóquelo en horizontal sobre una superficie plana para secarlo

Farm. BURENTA SILE MOZZA
PRODUCES ROCHÉ S.A. G. e. l.
Divisione Distribuzione
DT & APPODERAMENTO GAL

durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden conservar a temperatura ambiente protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

Preparación de portaobjetos con muestras recogidas de Roche Cell Collection Medium mediante ThinPrep 5000 Processor

Los portaobjetos se preparan con muestras extraídas en Roche Cell Collection Medium mediante ThinPrep 5000 Processor. Cuando finaliza la secuencia de ThinPrep 5000 Processor los portaobjetos procesados se asienta en una gradilla sumergida en una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$ que contiene una solución fijadora. Retire la solución fijadora o la cubeta de portaobjetos de ThinPrep 5000 Processor e incube los portaobjetos durante al menos otros 15 minutos y nunca más de 60. Remplace la solución de etanol de la cubeta de portaobjetos después de cada sesión. Una vez que haya finalizado el periodo de incubación, retire los portaobjetos de la solución de etanol y colóquelos en horizontal sobre una superficie plana para secarlos durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden conservar a temperatura ambiente protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

Antes de proceder a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit, retire la etiqueta original del portaobjetos que se ha utilizado con ThinPrep 5000 Processor y coloque la etiqueta correspondiente que se haya generado en el instrumento BenchMark IHC/ISH.

Preparación de muestras con PreservCyt

La muestra citológica que se encuentra en PreservCyt Solution (PC) destinada a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit se puede conservar a una temperatura de entre 15 y 30 °C durante seis semanas y durante otras 12 semanas más si se congela a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Es necesario el uso de portaobjetos ThinPrep Arcless Microscope o Superfrost Plus en la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH.

Preparación de portaobjetos con muestras recogidas de PreservCyt mediante ThinPrep 2000 Processor

Los portaobjetos se preparan con muestras recogidas de PreservCyt mediante ThinPrep 2000 Processor. Una vez que haya terminado la secuencia del procesador ThinPrep 2000, el portaobjetos procesado debe asentarse en un vial de fijación con una solución de etanol de grado de reactivo $\geq 95\%$. Retire el vial del soporte de la solución fijadora de ThinPrep 2000 Processor y traspase el portaobjetos procesado del vial a un recipiente portaobjetos que contenga una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$. Incube el portaobjetos en etanol durante al menos 15 minutos y nunca más de 60. Remplace la solución de etanol del vial fijador y de la cubeta de portaobjetos después de haber llevado a cabo 20 preparaciones de portaobjetos. Una vez que haya finalizado el periodo de incubación, retire el portaobjetos de la solución de etanol y colóquelo en horizontal sobre una superficie plana para secarlo durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden conservar a una temperatura de entre 15 y 30 °C protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

Preparación de portaobjetos con muestras recogidas de PreservCyt mediante ThinPrep 5000 Processor

Los portaobjetos se preparan con muestras recogidas de PreservCyt mediante ThinPrep 5000 Processor. Cuando finaliza la secuencia de ThinPrep 5000 Processor los portaobjetos procesados se asienta en una gradilla sumergida en una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$ que contiene una solución fijadora. Retire la solución fijadora o la cubeta de portaobjetos de ThinPrep 5000 Processor e incube los portaobjetos durante al menos otros 15 minutos y nunca más de 60. Remplace la solución de etanol de la cubeta de portaobjetos después de cada sesión. Una vez que haya finalizado el periodo de incubación, retire los portaobjetos de la solución de etanol y colóquelos en horizontal sobre una superficie plana para secarlos durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden conservar a temperatura ambiente protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

Antes de proceder a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit, retire la etiqueta original del portaobjetos que se ha utilizado con ThinPrep 5000 Processor y coloque la etiqueta correspondiente que se haya generado en el instrumento BenchMark IHC/ISH.

Preparación de muestras con BD SurePath

La muestra citológica que se encuentra en SurePath Preservative Fluid destinada a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit se puede conservar a una temperatura de entre 15 y 30 °C durante un máximo de cuatro semanas y durante seis meses si se almacena en un refrigerador a una temperatura de entre 2 y 10 °C.

Preparación de portaobjetos con BD SurePath inmediatamente después del procesamiento de un portaobjetos de prueba Papanicoláu

Una vez que se ha generado un sedimento celular enriquecido en la preparación de un portaobjetos para una tinción Papanicoláu, se puede utilizar de inmediato para la preparación de un segundo portaobjetos que se vaya a teñir con CINtec PLUS Cytology Kit. Siga las recomendaciones del fabricante en cuanto al uso de «Slide Preparation» [opción 2] para muestras GYN del instrumento PrepStain™. El volumen de resuspensión debe pasar a ser 0 mL en la opción de menú «Change Sample/Stain Parameters».

Preparación de portaobjetos con BD SurePath a partir de un sedimento celular conservado

Los sedimentos celulares enriquecidos se pueden conservar mediante la incorporación de unos 2 mL de SurePath Preservative Fluid y tapando los tubos de muestra para su almacenamiento (consulte las instrucciones del fabricante para obtener información más detallada). A partir de la fecha de la recogida de la muestra, los sedimentos celulares que se hayan resuspendido en líquido conservante se pueden almacenar durante un máximo de cuatro semanas a una temperatura de entre 15 y 30 °C o durante seis meses en un refrigerador con una temperatura de entre 2 y 10 °C. Para poder procesar un portaobjetos en CINtec PLUS Cytology Kit, primero es necesario dejar la muestra a temperatura ambiente durante 60 minutos. Comience con el segundo paso de centrifugación del proceso de enriquecimiento GYN y lleve a cabo el resto de los pasos de procesamiento previo tal y como se indica en las instrucciones del fabricante en cuanto al reprocesamiento de los sedimentos celulares conservados. Siga las recomendaciones del fabricante en cuanto al uso de «Slide Preparation» [opción 2] para muestras GYN del instrumento PrepStain.

En todas las opciones de preparación que se han mencionado anteriormente, retire la gradilla de portaobjetos del instrumento PrepStain cuando haya finalizado el paso de transferencia de la muestra. Gire la gradilla hasta la posición contraria y deje que se vierta el líquido. Pipetee 2 mL de una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$ en cada cámara de estabilización y escurra el líquido de forma inmediata. Enjuague con 2 mL de una solución de etanol de calidad de reactivo a $\geq 95\%$ una segunda vez y deje que incube durante 10 minutos. Escurra el líquido por segunda vez volviendo a girar la gradilla hasta la posición contraria. Retire las cámaras de estabilización de todos los portaobjetos y deje que se sequen los portaobjetos en posición horizontal sobre una superficie plana durante al menos 60 minutos. Los portaobjetos secos se pueden conservar a temperatura ambiente protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

Uso de frotis convencionales

Los frotis convencionales se deben fijar con un reactivo de fijación citológico en aerosol que contenga polietilenglicol (como Safetex Cytology Fixative, Andwin Scientific) de inmediato tras la recogida de la muestra. Los portaobjetos de frotis convencionales fijados con aerosol se pueden conservar a temperatura ambiente protegidos de la incidencia directa de la luz y se deben teñir con CINtec PLUS Cytology Kit en un plazo máximo de siete días a partir de su preparación.

No es necesario ningún otro tipo de procesamiento previo antes de cargar los portaobjetos en el instrumento BenchMark IHC/ISH.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

CINtec PLUS Cytology Kit se ha creado para su uso con instrumentos BenchMark IHC/ISH junto con los reactivos auxiliares VENTANA y sus accesorios. Consulte las Tablas 2, 3 y 4 para ver los protocolos de tinción recomendados.

CINtec PLUS Cytology Kit se ha optimizado a partir de los parámetros que se muestran en las Tablas 2, 3 y 4; el usuario debe validar todos los resultados que se obtengan con este kit.

Los parámetros de los protocolos automatizados se pueden mostrar, imprimir y editar según las instrucciones que se describen en el Manual del usuario del instrumento.

Farm. ROBERTA MILLEMOZZA
PRODUTTI ROCCHE S.p.A. e.s.
Divisione Diagnostica
DT & APPLICAZIONE LEGAL

Tabla 2. Protocolo de tinción recomendado para los portaobjetos preparados ThinPrep, SurePath y portaobjetos de frotis convencionales en un instrumento BenchMark GX.

Procedimiento de tinción	GX CINtec PLUS Cytology		
	Tipo de preparación del portaobjetos		
Opciones que se pueden seleccionar	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otros	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No se puede seleccionar	No se puede seleccionar	16 minutos
Tiempo de incubación del anticuerpo	16 minutos	20 minutos	16 minutos
Tiempo de incubación en HQ Linker	12 minutos	16 minutos	12 minutos
HRP Multimer Inc Tiempo	6 minutos	8 minutos	8 minutos
Tiempo de incubación en NP Linker	8 minutos	16 minutos	8 minutos
Tiempo de incubación en AP Multimer	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Hematoxylin	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Bliuing	4 minutos	4 minutos	4 minutos

Tabla 3. Protocolo de tinción recomendado para los portaobjetos preparados con ThinPrep, SurePath y los frotis convencionales en el instrumento BenchMark XT.

Procedimiento de tinción	XT CINtec PLUS Cytology		
	Tipo de preparación del portaobjetos		
Opciones que se pueden seleccionar	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otros	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No se puede seleccionar	No se puede seleccionar	16 minutos
Tiempo de incubación del anticuerpo	16 minutos	20 minutos	16 minutos
Tiempo de incubación en HQ Linker	12 minutos	16 minutos	12 minutos
HRP Multimer Inc Tiempo	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Tiempo de incubación en NP Linker	8 minutos	16 minutos	8 minutos

Procedimiento de tinción	XT CINtec PLUS Cytology		
	Tipo de preparación del portaobjetos		
Opciones que se pueden seleccionar	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convencional
Tiempo de incubación en AP Multimer	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Hematoxylin	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Bliuing	4 minutos	4 minutos	4 minutos

Tabla 4. Protocolo de tinción recomendado para los portaobjetos preparados ThinPrep, SurePath y portaobjetos de frotis convencionales en un instrumento BenchMark ULTRA.

Procedimiento de tinción	U CINtec PLUS Cytology		
	Tipo de preparación del portaobjetos		
Opciones que se pueden seleccionar	RCCM/ThinPrep	SurePath	Convencional
ThinPrep	Seleccionado	No seleccionado	No seleccionado
SurePath	No seleccionado	Seleccionado	No seleccionado
Otros	No seleccionado	No seleccionado	Seleccionado
Opción de acondicionamiento celular	No se puede seleccionar	No se puede seleccionar	16 minutos
Tiempo de incubación del anticuerpo	16 minutos	16 minutos	16 minutos
Tiempo de incubación en HQ Linker	12 minutos	16 minutos	12 minutos
Tiempo de HRP Multimer Inc	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Tiempo de incubación en NP Linker	8 minutos	16 minutos	8 minutos
Tiempo de incubación en AP Multimer	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Hematoxylin	8 minutos	8 minutos	8 minutos
Bliuing	4 minutos	4 minutos	4 minutos

Funcionamiento del instrumento BenchMark IHC/ISH

1. Coloque la etiqueta de código de barras de portaobjetos que se corresponda con el protocolo que se va a llevar a cabo.
2. Cargue los dispensadores de CINtec PLUS Cytology Kit, así como los reactivos auxiliares necesarios, en la bandeja de reactivos y colóquelos en el instrumento.
3. Compruebe los fluidos y los vacíe los residuos.
4. Cargue los portaobjetos en el instrumento.
5. Inicie la sesión de tinción.
6. Cuando haya finalizado la sesión, retire los portaobjetos del instrumento.

Farm. ROBERTA RUIZ VEJAZA
PROCESOS ROCHES S.A. de C.V.
DIVISION DIAGNOSTICO
DT & APODERADO LEGAL

PROCEDIMIENTO POSTERIOR AL PROCESAMIENTO: MONTAJE Y COLOCACIÓN DE CUBREOBJETOS

Para que la sensibilidad sea óptima en todo momento y para evitar la desaparición del color de los cromógenos, es necesario llevar a cabo un procedimiento de montaje en dos pasos.

Retire los portaobjetos del instrumento BenchMark IHC/ISH y agite y enjuague suavemente los portaobjetos con agua del grifo, desionizada o destilada y detergente lavavajillas suave hasta que haya desaparecido por completo la solución LCS de los portaobjetos.

NOTA: No deje correr el agua directamente encima de los portaobjetos. Deje correr el agua con la presión mínima.

Los portaobjetos se montan mediante un protocolo de dos pasos y los siguientes pasos han de llevarse a cabo de forma secuencial:

Montaje acuoso:

1. Incube los portaobjetos en agua destilada o desionizada durante al menos 1 minuto;
2. Los portaobjetos en los que no se vaya a colocar cubreobjetos deben permanecer en agua destilada o desionizada durante la aplicación del medio de montaje acuoso CC/Mount al resto de los portaobjetos;
3. Retire un solo portaobjetos del agua destilada o desionizada y seque suavemente la parte posterior con una toallita de papel para eliminar el exceso de agua. No retire el agua ni la seque por la parte frontal del portaobjetos (el lado en el que se encuentra la muestra);
4. Mantenga el portaobjetos ligeramente inclinado y aplique de 4 a 6 gotas de medio de montaje acuoso CC/Mount en cada portaobjetos de ThinPrep o SurePath y 8 gotas en los portaobjetos de frotis convencionales. Evite que se formen burbujas. Para evitar la formación de burbujas es posible descartar la primera gota en una toallita de papel antes de aplicar CC/Mount en el área de preparación de la muestra del portaobjetos;
5. Incline suavemente el portaobjetos de vidrio y gírelo con cuidado para que se genere una fina capa de medio de montaje que cubra completamente el área de preparación de la muestra (de momento no se debe aplicar ningún cubreobjetos, ya sea de vidrio o de lámina); compruebe la distribución del medio de montaje en el portaobjetos mediante una inspección visual;
6. Limpie el exceso del medio de montaje acuoso CC/Mount de la parte trasera y de los bordes del portaobjetos. Si fuera necesario, utilice una toallita de papel;
7. Para secarlos, coloque los portaobjetos preparados en posición horizontal
 - a) Incube los portaobjetos preparados con ThinPrep o SurePath durante una hora a una temperatura de entre 37 y 60 °C o, de forma opcional, a temperatura ambiente durante toda la noche;
 - b) Incube los portaobjetos de frotis convencionales a una temperatura de 37 °C durante cuatro horas o a 60 °C durante una hora; también puede dejarlos durante toda la noche a temperatura ambiente

Cubreobjetos de vidrio o película:

1. Una vez que se ha secado por completo el montaje acuoso CC/Mount, deje que los portaobjetos alcancen la temperatura ambiente, siempre que sea necesario. Incube los portaobjetos en xileno durante al menos 1 minuto y un máximo de 20 minutos. A continuación coloque el cubreobjetos en los portaobjetos mediante un método de vidrio o de película con medio de montaje con base de xileno.
NOTA: Los portaobjetos no deben deshidratarse mediante una serie de gradientes de soluciones de alcohol antes de aplicar el cubreobjetos de vidrio o de película.
2. Deje que el medio de montaje con base de xileno se seque a temperatura ambiente.
NOTA: Para reducir al máximo la desaparición del color, proteja los portaobjetos de la luz y consérvelos a temperatura ambiente.

CONTROL DE CALIDAD

Cualquier diferencia en la forma de llevar a cabo los procedimientos recomendados de fijación o de procesamiento de muestras de citología de cuello de útero puede dar lugar a variaciones significativas en los resultados. Cuando el producto no funciona correctamente debido a los problemas de manipulación o a la inestabilidad, no podrá observar indicios claros al respecto. Por lo tanto, los controles correspondientes y las muestras del paciente deben analizarse de forma simultánea.

Control positivo

Las muestras que se hayan procesado de la misma forma que las del paciente deberían utilizarse como controles positivos. Los controles positivos indican que las muestras se han preparado correctamente y que se han aplicado los métodos de tinción adecuados. Se debe incluir un control positivo en cada sesión de tinción.

Los controles positivos conocidos únicamente sirven para monitorizar el comportamiento correcto de los reactivos de la prueba y de las muestras procesadas y no como ayuda para establecer un diagnóstico específico de las muestras del paciente. Si los controles positivos no muestran una tinción positiva adecuada, los resultados de las muestras de la prueba se deben considerar no válidos.

Control negativo

Como control negativo interno capaz de evaluar la tinción de fondo puede servir una variedad de distintos tipos de células presentes en muestras de citología de cuello de útero representativas que se sabe que son negativas a la expresión de los antígenos p16INK4a y Ki-67 (como las células superficiales).

Verificación del ensayo

Antes de comenzar a utilizar CINtec PLUS Cytology Kit en procedimientos diagnósticos, el usuario debe comprobar el rendimiento del kit mediante muestras positivas o negativas con características de rendimiento conocidas.

INTERPRETACIÓN DE LAS TINCIONES Y RESULTADOS PREVISTOS

La tinción con CINtec PLUS Cytology Kit da lugar a dos productos de reacción con colores diferentes: un precipitado de color marrón en los sitios del antígeno p16INK4a y un precipitado de color rojo en los sitios del antígeno Ki-67. La tinción de color marrón de las células (citoplasma y/o núcleo) indica una sobreexpresión de p16INK4a. La tinción roja de las células (en los núcleos) indica la presencia de la expresión de Ki-67. Las células que se tiñen con ambos antígenos presentan una tinción citoplasmática marrón con núcleos, por lo general, de color rojo intenso. Antes de interpretar los resultados, un anatomopatólogo o un auxiliar de laboratorio de citología cualificados, con experiencia en procedimientos de inmunocitoquímica y formados en la interpretación de los portaobjetos teñidos con CINtec PLUS Cytology Kit deben evaluar los controles correspondientes.

La interpretación de los resultados de la prueba únicamente debe estar a cargo de un profesional con certificación y debe llevarse a cabo teniendo en cuenta el historial clínico del paciente y el resto de pruebas diagnósticas que se hayan realizado.

Para llevar a cabo la interpretación de los portaobjetos de citología de cuello de útero con tinción de CINtec PLUS Cytology Kit, los portaobjetos se deben evaluar en relación con la presencia de ambas tinciones en las células epiteliales del cuello de útero, la marrón citoplasmática y la roja nuclear, que indican la expresión simultánea de p16INK4a y Ki-67. Además, como ocurre a la hora de generar informes sobre los resultados de la citología Papanicoláu, se deben evaluar la idoneidad de las muestras según Bethesda Guidelines 2015 (o TBS)³¹ cuando se vaya a generar un informe sobre los resultados de la prueba de CINtec PLUS Cytology Kit.

Resultado positivo de la prueba

La presencia de una o varias células epiteliales del cuello de útero que contenga tanto la inmunotinción citoplasmática específica marrón como la inmunotinción nuclear específica roja dentro de la misma célula se considera que el resultado de la prueba de CINtec PLUS Cytology Kit es positivo, independientemente de sus características citomorfológicas.

Resultado negativo de la prueba

Si no existen células epiteliales del cuello de útero que presenten inmunotinción citoplasmática marrón e inmunotinción nuclear roja de forma simultánea, se considera que el resultado de la prueba de CINtec PLUS Cytology Kit es negativo.

La presencia de inmunorreacción en las células epiteliales del cuello de útero únicamente a uno de los marcadores y no a ambos (como la aparición solamente de tinción marrón de p16INK4a o de tinción roja de Ki-67) no se considera un resultado de prueba positivo con el CINtec PLUS Cytology Kit.

LIMITACIONES ESPECÍFICAS

1. Solo para uso profesional. Para llevar a cabo procedimientos de inmunocitoquímica es necesario haber recibido formación especializada.
2. La evaluación con microscopio de los portaobjetos teñidos con CINtec PLUS Cytology Kit únicamente debería dejarse en manos de profesionales con certificación que cuenten con formación para interpretar los resultados de la prueba.

3. La interpretación clínica de cualquier tinción positiva o negativa es algo que se debe evaluar en función del contexto de la presentación clínica y otros criterios citológicos.
4. La interpretación de los resultados de tinción con CINtec PLUS Cytology Kit depende de la intensidad y de la calidad de la contratinción de hematoxilina. El cliente deberá validar cualquier variación con respecto a los reactivos y los periodos de incubación recomendados, dado que una contratinción incompleta o excesiva puede afectar a la correcta interpretación de los resultados.
5. Las muestras de cuello de útero a menudo presentan niveles de sangre total que pueden detectarse a primera vista. Si la concentración de sangre total es superior al 1.0 %, será necesario llevar a cabo un lisado de la muestra con ácido acético glacial (GAA) según el protocolo ThinPrep antes de preparar el portaobjetos.
6. Los portaobjetos con frotis convencionales que se vayan a destinar a la tinción con CINtec PLUS Cytology Kit se deben preparar con portaobjetos de vidrio para microscopio Superfrost Plus y Safetex Cytology Fixative (Andwin Scientific), un reactivo de fijación citológico en aerosol que contiene polietilenglicol. El cliente deberá validar cualquier variación que se lleve a cabo respecto a esta recomendación.
7. No se recomienda el uso de ThinPrep 3000 Processor para la preparación de muestras con ThinPrep, dado que el procedimiento de fijación en aerosol que se lleva a cabo en el instrumento puede dar lugar a una pérdida significativa de muestra cuando los portaobjetos preparados se tiñen con CINtec PLUS Cytology Kit.
8. Para la preparación con ThinPrep de las muestras que están destinadas a la tinción inmunocitoquímica con CINtec PLUS Cytology Kit en instrumentos BenchMark IHC/ISH es necesario contar con portaobjetos ThinPrep Arcless Microscope, ThinPrep Microscope Slides, en el caso de los procesamientos especiales, o portaobjetos de microscopio Superfrost Plus. Los portaobjetos de microscopio ThinPrep que contengan una zona de cribado impresa pueden dar lugar a resultados de tinción incoherentes.
9. El fabricante suministra estos anticuerpos y reactivos con una dilución óptima para que se utilicen, según las instrucciones que se recogen en este documento, en portaobjetos preparados de citología de base líquida (LBC) para pruebas inmunocitoquímicas. Cualquier variación en los procedimientos recomendados de la prueba puede ocasionar la invalidación de los resultados previstos; deben emplearse los controles adecuados y documentarlos. Los usuarios que no sigan los procedimientos recomendados de la prueba deberán hacerse responsables de la interpretación de los resultados del paciente teniendo en cuenta las circunstancias.
10. Es posible que no estén todos los ensayos registrados en cada instrumento. Póngase en contacto con el representante local de servicio Roche para obtener más información.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

RENDIMIENTO DE ANÁLISIS

Se ha evaluado el rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit mediante estudios de reproducibilidad analítica y de otros tipos con similar importancia.

Sensibilidad y especificidad analíticas

La sensibilidad y especificidad analíticas de los anticuerpos primarios p16 y Ki-67 se pusieron a prueba mediante los ensayos de Western blotting y de inhibición con péptidos. En los ensayos de Western blotting se utilizaron lisados de estirpes celulares que representaban una variedad de intensidades de la tinción. El anticuerpo anti-p16INK4a (E6H4) fue capaz de detectar una banda de, aproximadamente, entre 15 y 20 kD en la preparación de proteína p16INK4a recombinante purificada. Además, el anticuerpo se unió específicamente a la proteína p16INK4a recombinante purificada y no a la misma cantidad de proteína recombinante sin relación. El anticuerpo también demostró capacidad de unión a la proteína p16INK4a endógena cuya expresión estaba presente en los lisados a partir de estirpes celulares HeLa, SK Mel 28 y DU145 y no en la estirpe celular MDA MB 231, negativa a p16INK4a. Los niveles relativos de proteína p16INK4a detectados en lisados de las cuatro estirpes celulares mediante Western Blot se correspondían con los datos de tinción IHC, demostrando la sensibilidad de la detección del anticuerpo anti-p16INK4a (E6H4). La unión del clon del anticuerpo Ki-67 (274-11AC3V1) se determinó mediante un ensayo Western Blot con lisados de células completas preparadas a partir de las estirpes celulares L428 (un linfoma de Hodgkin positivo en el antígeno de Ki-67; DSMZ ATCC 197) y LNCaP (una estirpe celular de carcinoma de próstata con un bajo nivel de expresión de la proteína Ki-67; ATCC CRL-1740). El anticuerpo fue capaz de detectar la proteína endógena Ki-67 en los lisados

celulares incluso cuando los niveles de expresión eran reducidos y la intensidad de la banda coincidía con la de la tinción IHC de Ki-67 en estas estirpes celulares. El anticuerpo primario Ki-67 (274-11AC3V1) de CINtec PLUS Cytology Kit se unió a un fragmento de la proteína recombinante Ki-67 purificada y la unión no se produjo en el caso de una cantidad equivalente de una proteína recombinante de control negativa no relacionada. En este ensayo no se detectó la unión en la estirpe celular LNCaP con niveles bajos de expresión de Ki-67. Los niveles relativos de la proteína Ki-67 detectados en los lisados de estas estirpes celulares mediante la técnica Western blotting coinciden con los datos de la tinción IHC y los datos de expresión de ARNm. Los resultados de la técnica Western blotting demuestran que el anticuerpo primario Ki-67 que se utiliza en CINtec PLUS Cytology Kit puede detectar la proteína endógena Ki-67 en lisados celulares y el fragmento de proteína recombinante Ki-67 en su forma purificada.

En los ensayos de inhibición con péptidos se emplearon soluciones que contenían los péptidos específicos de p16 y Ki-67. La combinación de anticuerpo primario se diluyó a un volumen 1:1: una proporción de volumen con soluciones de péptido específico de p16 o Ki-67 de diferentes concentraciones para abarcar una variedad de relaciones molares: un exceso molar del péptido de aproximadamente 1, 10, 100, 1000 y 10000 veces en comparación con la concentración final del anticuerpo en la solución. La combinación de anticuerpo primario que contiene un péptido específico de p16 sirvió como control no específico del anticuerpo anti-Ki-67 y un péptido Alk-a sin relación se empleó como control no específico para el anticuerpo anti-p16. Se tiñó un portaobjetos de cada muestra (tres muestras combinadas de citología de cuello de útero y una de células CaSki) con cada una de las soluciones. Los resultados del estudio indicaron que el anticuerpo anti-p16 se une de forma específica a la proteína p16 y que el anticuerpo anti-Ki-67 se une de forma específica a la proteína Ki-67. Tal y como estaba previsto, la intensidad de la tinción de p16 y Ki-67 se redujo en todas las muestras tras la tinción con soluciones que contenían los respectivos péptidos específicos a una concentración de 1 M y alcanzando una total inhibición con soluciones que contenían concentraciones ≥ 10 M, mientras que no se observaba una reducción de la intensidad de la tinción de p16 tras la tinción con soluciones que contenían un péptido no específico o que no contenían péptido.

Repetibilidad y precisión intermedia

Se llevaron a cabo estudios de precisión de la tinción con CINtec PLUS Cytology Kit de muestras ThinPrep de cuello de útero para demostrar:

- La precisión global: se calculó el porcentaje de resultados iguales a la decisión mayoritaria para cada uno de los 12 conjuntos de citologías de cuello de útero (3 conjuntos HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- y LBC y 3 conjuntos negativos en estirpe celular T24) teñidos con 3 lotes de CINtec PLUS Cytology Kit en 5 días no consecutivos con dos portaobjetos replicados de cada conjunto y que evaluaron tres equipos de lectores.
- La precisión entre días: se calculó el porcentaje de resultados iguales a la decisión mayoritaria para cada día (del Día 1 al Día 5) con datos acumulados de 12 conjuntos de citologías de cuello de útero (3 conjuntos HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- y LBC y 3 conjuntos negativos en estirpe celular T24), 3 lotes de CINtec PLUS Cytology Kit y dos portaobjetos replicados de cada conjunto, que evaluaron tres equipos de lectores.
- La precisión entre lotes: se calculó el porcentaje de resultados iguales a la decisión mayoritaria para cada uno de lotes de CINtec PLUS Cytology Kit (Lotes del 1 al 3) con datos acumulados de 12 conjuntos de citologías de cuello de útero (3 conjuntos HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- y LBC y 3 conjuntos negativos en estirpe celular T24) en 5 días no consecutivos con dos portaobjetos replicados y tres equipos de lectores.

Todos los portaobjetos estaban enmascarados y aleatorizados cuando se evaluaron tras la interpretación de la tinción con CINtec PLUS Cytology Kit. Tres equipos de lectores, compuestos por un auxiliar de laboratorio citológico y un anatomopatólogo cada uno, evaluaron los portaobjetos. La decisión mayoritaria, o el resultado del modo a nivel de conjunto (positivo o negativo), sirvió como referencia para determinar el porcentaje de resultados iguales a la decisión mayoritaria. El porcentaje de resultados iguales a la decisión mayoritaria es equivalente al PPA cuando la decisión mayoritaria es positiva y al NPA cuando esta es negativa. Los resultados aparecen resumidos en las Tablas 5-7. Todos los intervalos de confianza (CI) eran intervalos de confianza del 95 % bilaterales. Los datos de CI se calcularon mediante el método bootstrap percentil salvo en aquellos casos en los que la estimación de punto fue del 100 %, en los que se utilizó el método de puntuación de Wilson.

Tabla 5. Estudio de precisión en el mismo laboratorio: precisión global

Categoría del conjunto	Número de evaluaciones	Modo de resultados de CINtec PLUS Cytology Kit (decisión mayoritaria)	Porcentaje de resultados iguales que la decisión mayoritaria	Intervalo de confianza del 95 %
Estirpe celular T24	270	Negativo	100.0 %	(98.6, 100.0)
NILM/VPH-	270	Negativo	94.1 %	(90.7, 97.0)
NILM/VPH+	90	Positiva	61.1 %	(47.2, 74.4)
ASC-US/VPH+	90	Positiva	93.3 %	(88.9, 97.8)
LSIL/VPH+	90	Positiva	100.0 %	(95.9, 100.0)
HSIL/VPH+	270	Positiva	98.9 %	(96.7, 100.0)

Tabla 6. Estudio de precisión en un solo laboratorio: precisión entre días

Categoría del conjunto	Número de evaluaciones	Modo de resultados de CINtec PLUS Cytology Kit (decisión mayoritaria)	Porcentaje de resultados iguales que la decisión mayoritaria				
			Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Estirpe celular T-24	270	Negativo	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/VPH-	270	Negativo	88.9 %	90.7 %	98.1 %	98.1 %	94.4 %
NILM/VPH+	90	Positiva	44.4 %	50.0 %	77.8 %	66.7 %	66.7 %
ASC-US/VPH+	90	Positiva	94.4 %	88.9 %	88.9 %	94.4 %	100.0 %
LSIL/VPH+	90	Positiva	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/VPH+	270	Positiva	100.0 %	94.4 %	100.0 %	100.0 %	100.0 %

Tabla 7. Estudio de precisión en un solo laboratorio: precisión entre lotes

Categoría del conjunto	Número de evaluaciones	Modo de resultados de CINtec PLUS Cytology Kit (decisión mayoritaria)	Porcentaje de resultados iguales que la decisión mayoritaria		
			Lote 1	Lote 2	Lote 3
Estirpe celular T24	270	Negativo	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/VPH-	270	Negativo	92.2 %	93.3 %	96.7 %
NILM/VPH+	90	Positiva	46.7 %	70.0 %	66.7 %
ASC-US/VPH+	90	Positiva	90.0 %	96.7 %	93.3 %
LSIL/VPH+	90	Positiva	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/VPH+	270	Positiva	100.0 %	100.0 %	96.7 %

Precisión del lector

Para evaluar la precisión del lector, tres equipos de lectores, compuestos por un auxiliar de laboratorio citológico y un anatomopatólogo cada uno, evaluaron todos los portaobjetos teñidos en los estudios de precisión, incluidos los dos duplicados de los 12 conjuntos de citologías de cuello de útero (3 conjuntos HSIL/HPV+, 1 LSIL/HPV+, 1 ASC-US/HPV+, 1 NILM/HPV+, 3 NILM/HPV- y LBC y 3 conjuntos negativos en estirpe celular

T24) y tres lotes de CINtec PLUS Cytology Kit en 5 días no consecutivos. El porcentaje de resultados iguales que la decisión mayoritaria se calculó a partir de los resultados combinados de entre los equipos de lectores y se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8. Estudio de precisión en un solo laboratorio: precisión entre lectores

Categoría del conjunto	Número de evaluaciones	Modo de resultados de CINtec PLUS Cytology Kit (decisión mayoritaria)	Porcentaje de resultados iguales que la decisión mayoritaria		
			Equipo de lectores 1	Equipo de lectores 2	Equipo de lectores 3
Estirpe celular T-24	270	Negativo	100.0 %	100.0 %	100.0 %
NILM/VPH-	270	Negativo	95.6 %	91.1 %	95.6 %
NILM/VPH+	90	Positiva	70.0 %	63.3 %	50.0 %
ASC-US/VPH+	90	Positiva	100.0 %	90.0 %	90.0 %
LSIL/VPH+	90	Positiva	100.0 %	100.0 %	100.0 %
HSIL/VPH+	270	Positiva	98.9 %	98.9 %	98.9 %

Reproducibilidad

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

- La reproducibilidad entre lotes de CINtec PLUS Cytology Kit (Tabla 9),
- La reproducibilidad en una misma sesión (Tabla 10) y entre sesiones (Tabla 11) en los instrumentos BenchMark GX, XT y ULTRA
- La reproducibilidad en una sola plataforma en los instrumentos BenchMark GX, XT y ULTRA (Tabla 12),
- La reproducibilidad entre plataformas en los instrumentos BenchMark GX, XT y ULTRA (Tabla 13).

Tabla 9. La reproducibilidad entre lotes de CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipo de muestra	Porcentaje de concordancia global
ThinPrep	100.0
SurePath	100.0

Tabla 10. Reproducibilidad en la misma sesión de CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipo de muestra	Porcentaje de concordancia global		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	93.8	96.3	92.6

Tabla 11. Reproducibilidad entre sesiones de CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipo de muestra	Porcentaje de concordancia global		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	96.2	100.0
SurePath	100.0	92.6	100

Farm. ROBERTA SILEY MOZZA
PRODUCED BY ROCHE S.A. G.e.l.
Division: Diagnostic
DT & APODADOR LEGAL

Tabla 12. Reproducibilidad en la misma plataforma de CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipo de muestra	Porcentaje de concordancia global		
	GX	XT	ULTRA
ThinPrep	100.0	100.0	100.0
SurePath	100.0	100.0	96.3

Tabla 13. Reproducibilidad entre plataformas de CINtec PLUS Cytology Kit.

Tipo de muestra	Porcentaje de concordancia global
ThinPrep	100.0
SurePath	96.3

Los estudios se llevaron a cabo con muestras de cuello de útero preparadas tanto con ThinPrep como con SurePath. Todos los estudios cumplieron los criterios de aceptación predeterminados.

Estudios de concordancia

Se evaluó el rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit para su uso con los instrumentos BenchMark GX, XT y ULTRA mediante una comparación con CINtec PLUS Kit (dispositivo de referencia, Roche mtm laboratories AG, Mannheim) que había presentado anteriormente una elevada sensibilidad y especificidad en cuanto a la presencia de una enfermedad cancerosa o precancerosa en las muestras de citología de cuello de útero con respecto a la presencia de un resultado de tinción doble positiva en p16INK4a y Ki-67 en las células epiteliales individuales de cuello de útero.^{7-15,18,20,23,25-28}

Los estudios de concordancia se llevaron a cabo con muestras de pacientes de poblaciones de uso previsto con un resultado de citología de Papanicoláu de NILM (negativo en lesión intraepitelial o malignidad), ASC-US, LSIL y HSIL de cada uno de los métodos independientes de preparación de citologías de cuello de útero: portaobjetos ThinPrep, BD SurePath y frotis convencionales. En el caso de las muestras LBC se prepararon dos portaobjetos de cada muestra de paciente. En el caso de los frotis convencionales, se prepararon dos portaobjetos del mismo paciente y la misma visita y se dividió el material de la muestra en dos portaobjetos («método de división de la muestra»). Uno de los portaobjetos se analizó con CINtec PLUS Cytology Kit en un instrumento BenchMark IHC/ISH y otro portaobjetos se tiñó con el dispositivo homologado anteriormente.

Algoritmo de lectura de las muestras LBC:

Dos lectores con formación se encargaron de la lectura de cada portaobjetos. Si estaban de acuerdo en el resultado, este se consideraba el resultado definitivo del portaobjetos. Si no estaban de acuerdo, un tercer lector llevaba a cabo una lectura adicional y el resultado mayoritario se convertía en el resultado definitivo del portaobjetos.

Algoritmo de lectura de los portaobjetos de frotis convencional:

Dos lectores con formación se encargaron de la lectura de cada portaobjetos. Si ambos lectores puntuaban el portaobjetos como positivo, se consideraba que el resultado definitivo del portaobjetos era positivo. Si no estaban de acuerdo en el resultado, un panel formado por otros tres lectores llevaba a cabo una revisión por consenso del portaobjetos y su conclusión se convertía en el resultado definitivo del portaobjetos. Si ambos lectores puntuaban el portaobjetos como negativo, un tercer lector llevaba a cabo una lectura adicional para confirmar el resultado negativo. Si el tercer lector confirmaba el resultado negativo, el resultado definitivo del portaobjetos se consideraba negativo. Si el tercer lector puntuaba el portaobjetos como positivo, el portaobjetos se sometía a una revisión por consenso del panel, cuya conclusión se convertía en el resultado definitivo del portaobjetos.

La concordancia entre los resultados de la prueba se notifica como el porcentaje de concordancia positiva (PPA) y el porcentaje de concordancia negativa (NPA) ± el intervalo de confianza (CI) del 95 % entre CINtec PLUS Cytology Kit para su uso con el instrumento BenchMark IHC/ISH y el dispositivo de referencia.

Tabla 14. Concordancia de los resultados de la prueba entre CINtec PLUS Cytology Kit y el dispositivo homologado previamente en preparaciones de portaobjetos con citologías de cuello de útero ThinPrep.

		Dispositivo homologado anteriormente	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	140	25
	-	17	147
Total		157	172

PPA (n/N) (CI del 95 %) = 140/157 x 100 % = 89.2 % (83.3-93.1 %)

NPA (n/N) (CI del 95 %) = 147/172 x 100 % = 85.5 % (79.4-90.0 %)

Tabla 15. Concordancia de los resultados de la prueba entre CINtec PLUS Cytology Kit y el dispositivo de referencia en preparaciones de portaobjetos de citología de cuello de útero SurePath.

		Dispositivo homologado anteriormente	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	56	3
	-	9	108
Total		65	111

PPA (n/N) (CI del 95 %) = 56/65 x 100 % = 86.2 % (75.7-92.5 %)

NPA (n/N) (CI del 95 %) = 108/111 x 100 % = 97.3 % (92.4-99.1 %)

Tabla 16. Concordancia de los resultados de la prueba entre CINtec PLUS Cytology Kit y el dispositivo homologado previamente en preparaciones de portaobjetos con citologías de cuello de útero de frotis convencionales.

		Dispositivo homologado anteriormente	
		+	-
CINtec PLUS Cytology Kit	+	98	17
	-	20	72
Total		118	89

PPA (n/N) (CI del 95 %) = 98/118 x 100 % = 83.1 % (75.3-88.8 %)

NPA (n/N) (CI del 95 %) = 72/89 x 100 % = 80.9 % (71.5-87.7 %)

Estudio de Roche Cell Collection Medium

Se evaluó el rendimiento de Roche Cell Collection Medium en comparación con la solución PreservCyt mediante la tinción de 616 pares de muestras de cuello de útero (casos) con CINtec PLUS Cytology Kit. En cada caso, se preparó un portaobjetos de cada vial respectivo, PC o RCCM. La lectura de todos los portaobjetos quedó a cargo de un equipo formado por un auxiliar de laboratorio citológico y un anatomopatólogo, que no conocían la identidad de los portaobjetos. Los resultados de la prueba de CINtec PLUS Cytology Kit de comparación entre medios (PC frente a RCCM) se resumen en la Tabla 17. Los porcentajes de positividad se calcularon mediante la división del número de casos positivos entre el número total de casos idóneos en cada medio. Los resultados demuestran una diferencia entre ambos porcentajes de positividad del 2.4 % (1.5, 6.3).

Farm. ROBERTA RIFLE MAZZA
PRODOTTORES ROCHE S.p.A. G. e. l.
Division Diagnostica
DT & APODERADO LEGAL

Tabla 17. Equivalencia de los porcentajes de positividad de CINtec PLUS Cytology Kit de Roche Cell Collection Medium (RCCM) y PreservCyt (PC).

Resultado de CINtec PLUS Cytology Kit con RCCM	Resultado de CINtec PLUS Cytology Kit con PC		
	Positiva	Negativo	Total
Positiva	170	48	218
Negativo	37	204	241
Total	207	252	459
Porcentaje de positividad con RCCM, n/N (%):	218/459 (47.5 %)		
Porcentaje de positividad con PC, n/N (%):	207/459 (45.1 %)		
Diferencia en los porcentajes de positividad, n/N (%):	11/459 (2.4 %; CI del 95 %: -1.5, 6.3)		

Los resultados de CINtec PLUS Cytology Kit en cuanto a la idoneidad celular en la comparación entre PreservCyt y Roche Cell Collection Medium se resumen en la Tabla 18. Los porcentajes de idoneidad celular se calcularon mediante la división del número de casos con idoneidad celular entre el número total de casos en cada medio. Los resultados demuestran una diferencia entre ambos porcentajes de idoneidad celular del 3.2 % (-0.0, 6.6).

Tabla 18. Comparación de la idoneidad de la celularidad de CINtec PLUS Cytology Kit con Roche Cell Collection Medium (RCCM) y PreservCyt (PC).

Idoneidad de la celularidad de CINtec PLUS Cytology Kit con RCCM	Idoneidad de la celularidad de CINtec PLUS Cytology Kit con PC		
	Sí	No	Total
Sí	468	63	531
No	43	42	85
Total	511	105	616
Porcentaje de idoneidad de RCCM, n/N (%):	531/616 (86.2 %)		
Porcentaje de idoneidad con PC, n/N (%):	511/616 (83.0 %)		
Diferencia en los porcentajes de idoneidad, n/N (%):	20/616 (3.2 %; CI del 95 %: -0.0, 6.6)		

RENDIMIENTO CLÍNICO

Se diseñó un ensayo multicéntrico (IMPACT, Improved Primary screening And Colposcopy Triage [Triaje mejorado de cribado primario y colposcopia]) para evaluar el rendimiento clínico de CINtec PLUS Cytology Kit con el instrumento BenchMark ULTRA y muestras de cuello de útero extraídas en entorno clínico y conservadas en solución PreservCyt® para la detección de una enfermedad de cuello de útero de grado alto. El estudio se diseñó para evaluar el rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit como análisis condicional en mujeres con ≥ 25 años que habían presentado un resultado positivo en VPH en las pruebas realizadas mediante cobas 4800 HPV Test o cobas 6800/8800 HPV Test. Los datos de este estudio respaldan la conclusión de que CINtec PLUS Cytology Kit sirve como ayuda en la identificación de mujeres con lesiones intraepiteliales de cuello de útero de evolución rápida en pacientes con resultados de prueba positivos en HR-HPV.

Características de rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit frente a la citología de Papanicoláu en mujeres de entre 25 y 65 años con resultado positivo mediante cobas® 6800/8800 o cobas® 4800 HPV Test

La comparativa de rendimiento entre CINtec PLUS Cytology Kit y la citología de Papanicoláu en mujeres con resultado positivo en cobas® 6800/8800 y cobas® 4800 HPV Test se muestra en las siguientes tablas: población con otros 12 HR HPV+ (Tabla 19), población con HPV16+ (Tabla 20) y población con HPV18+ (Tabla 21). En los tres grupos de genotipo se observaron un aumento de la sensibilidad y una reducción de la especificidad en la detección de enfermedades de cuello de útero de evolución rápida entre CINtec PLUS Cytology Kit y la citología de Papanicoláu (Tablas 19, 20 y 21).

Entre las mujeres con resultados positivos en ambas pruebas, cobas® 6800/8800 y cobas® 4800 HPV Test, el incremento máximo en la sensibilidad (diferencia = 23.1 % y 24.2 %, respectivamente) y la reducción mínima de especificidad (diferencia = 7.9 % y 8.7 %, respectivamente) con respecto a la citología Papanicoláu se produjeron en las poblaciones con otros 12 HR HPV+ (Tabla 19).

En todos los casos, el uso de CINtec PLUS Cytology Kit dio lugar a una reducción significativa del riesgo de padecer la enfermedad en los resultados negativos de CINtec PLUS Cytology Kit frente a los de la citología Papanicoláu NILM. Entre los positivos de mujeres obtenidos mediante cobas® 6800/8800 HPV Test, 1-NPV fue un 3.7 %, 6.1 %, y 1.2 % más bajo en \geq CIN2 y 0.9 %, 3.3 % y 0.3 % más bajo en \geq CIN3 en las poblaciones con otros 12 HR HPV+, con HPV16+ y HPV18+, respectivamente. Entre los positivos de mujeres obtenidos mediante cobas® 4800 HPV Test, 1-NPV fue un 3.4 %, 9.1 %, y 3.3 % más bajo en \geq CIN2 y 0.8 %, 5.1 % y 0.5 % más bajo en \geq CIN3 en las poblaciones con otros 12 HR HPV+, con HPV16+ y HPV18+, respectivamente.

Farm. ROBERTA NILE MAZZA
PRODUTTORE ROCHE S.A. del.
Division Diagnostica
DT & APODERADA LEGAL

Tabla 19. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit frente a la citología Papanicoláu en mujeres con otras 12 HR HPV+ de entre 25 y 65 años.

cobas [®] 6800/8800 system, con otras 12 HR HPV+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de \geq CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	83.0 (254/306) (78.4, 86.8)	58.8 (180/306) (53.2, 64.2)	24.2 (18.3, 29.9)
Especificidad (%)	56.8 (1373/2416) (54.8, 58.8)	65.5 (1583/2416) (63.6, 67.4)	-8.7 (-10.9, -6.4)
PPV (%)	19.6 (254/1297) (18.5, 20.6)	17.8 (180/1013) (16.2, 19.3)	1.8 (0.0, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (52/1425) (2.9, 4.6)	7.4 (126/1709) (6.5, 8.3)	-3.7 (-4.5, -2.4)
Prevalencia (%)	11.2 (306/2722)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de \geq CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	86.0 (80/93) (77.5, 91.6)	66.7 (62/93) (56.6, 75.4)	19.4 (10.0, 28.7)
Especificidad (%)	53.7 (1412/2629) (51.8, 55.6)	63.8 (1678/2629) (62.0, 65.6)	-10.1 (-12.3, -8.0)
PPV (%)	6.2 (80/1297) (5.6, 6.6)	6.1 (62/1013) (5.2, 6.9)	0.0 (-0.8, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (13/1425) (0.5, 1.5)	1.8 (31/1709) (1.3, 2.4)	-0.9 (-1.4, -0.3)
Prevalencia (%)	3.4 (93/2722)		
cobas [®] 4800 system, con otras 12 HR HPV+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de \geq CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	82.1 (256/312) (77.4, 85.9)	59.0 (184/312) (53.4, 64.3)	23.1 (17.3, 28.7)
Especificidad (%)	58.6 (1520/2594) (56.7, 60.5)	66.5 (1726/2594) (64.7, 68.3)	-7.9 (-10.1, -5.8)
PPV (%)	19.2 (256/1330) (18.1, 20.3)	17.5 (184/1052) (15.9, 19.0)	1.8 (0.2, 3.3)
1-NPV (%)	3.6 (56/1576) (2.8, 4.4)	6.9 (128/1854) (6.0, 7.8)	-3.4 (-4.4, -2.3)
Prevalencia (%)	10.7 (312/2906)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de \geq CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	86.2 (81/94) (77.8, 91.7)	67.0 (63/94) (57.0, 75.7)	19.1 (9.8, 28.4)
Especificidad (%)	55.6 (1563/2812) (53.7, 57.4)	64.8 (1823/2812) (63.0, 66.6)	-9.2 (-11.3, -7.2)
PPV (%)	6.1 (81/1330) (5.5, 6.5)	6.0 (63/1052) (5.1, 6.8)	0.1 (-0.7, 0.9)
1-NPV (%)	0.8 (13/1576) (0.5, 1.3)	1.7 (31/1854) (1.2, 2.2)	-0.8 (-1.3, -0.3)
Prevalencia (%)	3.2 (94/ 2906)		

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

Farm. ROBERTA WILKINSON
PRODUCOS ROCHÉ S.A. de I.
Division Diagnostica
DI & APODERADA LEGAL

Tabla 20. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit frente a la citología Papanicoláu en mujeres con HPV16+ de entre 25 y 65 años.

cobas® 6800/8800 system, HPV16+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	92.6 (176/190) (88.0, 95.6)	75.8 (144/190) (69.2, 81.3)	16.8 (10.7, 23.2)
Especificidad (%)	57.2 (349/610) (53.3, 61.1)	68.5 (418/610) (64.7, 72.1)	-11.3 (-15.4, -7.2)
PPV (%)	40.3 (176/437) (37.9, 42.7)	42.9 (144/336) (39.4, 46.3)	-2.6 (-5.7, 0.8)
1-NPV (%)	3.9 (14/363) (2.3, 6.2)	9.9 (46/464) (7.8, 12.3)	-6.1 (-7.1, -2.6)
Prevalencia (%)	23.8 (190/800)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	92.5 (111/120) (86.4, 96.0)	77.5 (93/120) (69.2, 84.1)	15.0 (7.7, 22.8)
Especificidad (%)	52.1 (354/680) (48.3, 55.8)	64.3 (437/680) (60.6, 67.8)	-12.2 (-16.0, -8.3)
PPV (%)	25.4 (111/437) (23.6, 27.2)	27.7 (93/336) (24.8, 30.5)	-2.3 (-4.7, 0.3)
1-NPV (%)	2.5 (9/363) (1.3, 4.4)	5.8 (27/464) (4.2, 7.8)	-3.3 (-4.7, -1.1)
Prevalencia (%)	15.0 (120/800)		
cobas® 4800 system, HPV16+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	93.6 (176/188) (89.2, 96.3)	76.6 (144/188) (70.0, 82.1)	17.0 (10.9, 23.5)
Especificidad (%)	44.8 (182/406) (40.1, 49.7)	60.1 (244/406) (55.3, 64.7)	-15.3 (-20.6, -9.8)
PPV (%)	44.0 (176/400) (41.7, 46.4)	47.1 (144/306) (43.5, 50.6)	-3.1 (-6.6, 0.5)
1-NPV (%)	6.2 (12/194) (3.6, 10.2)	15.3 (44/288) (12.0, 19.0)	-9.1 (-13.4, -4.8)
Prevalencia (%)	31.6 (188/594)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	94.0 (110/117) (88.2, 97.1)	78.6 (92/117) (70.4, 85.1)	15.4 (7.9, 23.4)
Especificidad (%)	39.2 (187/477) (34.9, 43.7)	55.1 (263/477) (50.6, 59.5)	-15.9 (-20.7, -11.0)
PPV (%)	27.5 (110/400) (25.7, 29.2)	30.1 (92/306) (27.1, 32.9)	-2.6 (-5.4, 0.2)
1-NPV (%)	3.6 (7/194) (1.8, 7.0)	8.7 (25/288) (6.2, 11.8)	-5.1 (-8.3, -1.7)
Prevalencia (%)	19.7 (117/594)		

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

Farm. ROBERTA FILENZA
PRODUTTI ROCHE S.p.A. e l.
Divisione Diagnostica
DT & APODERADA REGAL

Tabla 21. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit frente a la citología Papanicoláu en mujeres con HPV18+ de entre 25 y 65 años.

cobas® 6800/8800 system, HPV18+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	83.8 (31/37) (68.9, 92.3)	73.0 (27/37) (57.0, 84.6)	10.8 (-6.7, 27.8)
Especificidad (%)	62.7 (205/327) (57.3, 67.8)	73.1 (239/327) (68.0, 77.6)	-10.4 (-16.1, -4.6)
PPV (%)	20.3 (31/153) (16.8, 23.4)	23.5 (27/115) (18.6, 28.2)	-3.2 (-8.2, 1.8)
1-NPV (%)	2.8 (6/211) (1.4, 5.4)	4.0 (10/249) (2.3, 6.3)	-1.2 (-3.6, 1.3)
Prevalencia (%)	10.2 (37/364)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	87.5 (14/16) (64.0, 96.5)	81.3 (13/16) (57.0, 93.4)	6.3 (-19.6, 31.6)
Especificidad (%)	60.1 (209/348) (54.8, 65.1)	70.7 (246/348) (65.7, 75.2)	-10.6 (-16.1, -5.0)
PPV (%)	9.2 (14/153) (6.7, 10.8)	11.3 (13/115) (8.0, 13.9)	-2.2 (-5.2, 0.8)
1-NPV (%)	0.9 (2/211) (0.3, 2.7)	1.2 (3/249) (0.4, 2.7)	-0.3 (-1.7, 1.1)
Prevalencia (%)	4.4 (16/364)		
cobas® 4800 system, HPV18+			
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN2		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	87.5 (28/32) (71.9, 95.0)	71.9 (23/32) (54.6, 84.4)	15.6 (-3.6, 33.9)
Especificidad (%)	53.4 (102/191) (46.3, 60.3)	62.3 (119/191) (55.3, 68.9)	-8.9 (-16.6, -1.0)
PPV (%)	23.9 (28/117) (19.9, 27.6)	24.2 (23/95) (18.8, 29.3)	-0.3 (-5.8, 5.3)
1-NPV (%)	3.8 (4/106) (1.5, 8.2)	7.0 (9/128) (4.0, 11.0)	-3.3 (-8.1, 1.3)
Prevalencia (%)	14.3 (32/223)		
Medición de rendimiento	Diagnóstico de CPR de ≥ CIN3		
	CINtec PLUS Cytology	Citología Papanicoláu	Diferencia
Sensibilidad (%)	86.7 (13/15) (62.1, 96.3)	80.0 (12/15) (54.8, 93.0)	6.7 (-20.5, 33.2)
Especificidad (%)	50.0 (104/208) (43.3, 56.7)	60.1 (125/208) (53.3, 66.5)	-10.1 (-17.5, -2.5)
PPV (%)	11.1 (13/117) (8.1, 13.2)	12.6 (12/95) (8.8, 15.6)	-1.5 (-5.1, 2.0)
1-NPV (%)	1.9 (2/106) (0.5, 5.2)	2.3 (3/128) (0.8, 5.2)	-0.5 (-3.4, 2.3)
Prevalencia (%)	6.7 (15/223)		

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

Características de rendimiento en la población con resultados positivos mediante cobas® 6800/8800 o cobas® 4800 HPV Test en mujeres de entre 30 y 65 años con resultados de citología Papanicoláu NILM

El rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit a la hora de detectar ≥ CIN2 y ≥ CIN3 en mujeres con otras 12 HR HPV+ con la citología Papanicoláu NILM se refleja en la Tabla 22.

En la población de mujeres con otras 12 HR HPV+ mediante cobas® 6800/8800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad en la detección de ≥ CIN2 fue del 66.7 % y del 69.7 %, respectivamente y del 62.5 % y del 67.8 %, respectivamente, en la detección de ≥ CIN3. Los valores de PPV en este grupo fueron del 13.0 % en ≥ CIN2 y del 2.6 % en ≥ CIN3, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 3.1 % en ≥ CIN2 y del 0.8 % en ≥ CIN3.

En la población de mujeres con otras 12 HR HPV+ mediante cobas® 4800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad en la detección de \geq CIN2 fue del 64.9 % y del 71.0 %, respectivamente y del 66.7 % y del 69.4 %, respectivamente, en la detección de \geq CIN3. Los valores de PPV en este grupo fueron del 12.0 % en \geq CIN2 y del 2.5 % en \geq CIN3, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 2.9 % en \geq CIN2 y del 0.6 % en \geq CIN3.

Tabla 22. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit en mujeres con otras 12 HR HPV+ de entre 30 y 65 años con citología NILM.

Medición de rendimiento	cobas® 6800/8800 system, con otras 12 HR HPV+/NILM		cobas® 4800 system, con otras 12 HR HPV+/NILM	
	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3
Sensibilidad (%)	66.7 (50/75) (55.4, 76.3)	62.5 (10/16) (38.6, 81.5)	64.9 (48/74) (53.5, 74.8)	66.7 (10/15) (41.7, 84.8)
Especificidad (%)	69.7 (772/1108) (66.9, 72.3)	67.8 (791/1167) (65.0, 70.4)	71.0 (864/1217) (68.4, 73.5)	69.4 (885/1276) (66.8, 71.8)
Prevalencia (%)	6.3 (75/1183)	1.4 (16/1183)	5.7 (74/1291)	1.2 (15/1291)
PPV (%)	13.0 (50/386) (10.8, 14.9)	2.6 (10/386) (1.6, 3.4)	12.0 (48/401) (9.9, 13.9)	2.5 (10/401) (1.6, 3.2)
NPV (%)	96.9 (772/797) (95.8, 97.8)	99.2 (791/797) (98.8, 99.6)	97.1 (864/890) (96.2, 97.9)	99.4 (885/890) (99.0, 99.7)
1-NPV (%)	3.1 (25/797) (2.2, 4.2)	0.8 (6/797) (0.4, 1.2)	2.9 (26/890) (2.1, 3.8)	0.6 (5/890) (0.3, 1.0)
PLR	2.20 (1.79, 2.59)	1.94 (1.19, 2.58)	2.24 (1.81, 2.65)	2.18 (1.35, 2.82)
NLR	0.48 (0.34, 0.64)	0.55 (0.27, 0.91)	0.49 (0.35, 0.66)	0.48 (0.22, 0.84)
Porcentaje de positividad (%)	32.6 (386/1183) (30.0, 35.3)		31.1 (401/1291) (28.6, 33.5)	

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; PLR = Cociente de verosimilitudes positivo; NLR = Cociente de verosimilitudes negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

El rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit a la hora de detectar \geq CIN2 y \geq CIN3 en mujeres con HPV16+ con la citología Papanicoláu NILM se refleja en la Tabla 23.

En la población de mujeres con HPV16+ mediante cobas® 6800/8800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad fueron del 76.3 % y del 72.5 %, respectivamente, en \geq CIN2 y del 75.0 % y del 70.5 %, respectivamente, en \geq CIN3. Los valores de PPV en este grupo fueron del 23.8 % en \geq CIN2 y del 14.8 % en \geq CIN3, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 3.5 % en \geq CIN2 y del 2.4 % en \geq CIN3.

En la población de mujeres con HPV16+ mediante cobas® 4800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad fueron del 80.6 % y del 61.7 %, respectivamente, en \geq CIN2 y del 81.8 % y del 59.0 %, respectivamente, en \geq CIN3. Los valores de PPV en este grupo fueron del 27.9 % en \geq CIN2 y del 17.3 % en \geq CIN3, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 5.5 % en \geq CIN2 y del 3.1 % en \geq CIN3.

Tabla 23. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit en mujeres con HPV16+ de entre 30 y 65 años con citología NILM.

Medición de rendimiento	cobas® 6800/8800 system, HPV16+/NILM		cobas® 4800 system, HPV16+/NILM	
	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3
Sensibilidad (%)	76.3 (29/38) (60.8, 87.0)	75.0 (18/24) (55.1, 88.0)	80.6 (29/36) (65.0, 90.2)	81.8 (18/22) (61.5, 92.7)
Especificidad (%)	72.5 (245/338) (67.5, 77.0)	70.5 (248/352) (65.5, 75.0)	61.7 (121/196) (54.8, 68.3)	59.0 (124/210) (52.3, 65.5)
Prevalencia (%)	10.1 (38/376)	6.4 (24/376)	15.5 (36/232)	9.5 (22/232)
PPV (%)	23.8 (29/122) (19.1, 28.2)	14.8 (18/122) (11.0, 18.1)	27.9 (29/104) (22.8, 32.7)	17.3 (18/104) (13.2, 20.8)
NPV (%)	96.5 (245/254) (94.2, 98.0)	97.6 (248/254) (95.8, 98.9)	94.5 (121/128) (90.5, 97.2)	96.9 (124/128) (93.5, 98.7)
1-NPV (%)	3.5 (9/254) (2.0, 5.8)	2.4 (6/254) (1.1, 4.2)	5.5 (7/128) (2.8, 9.5)	3.1 (4/128) (1.3, 6.5)
PLR	2.77 (2.10, 3.49)	2.54 (1.81, 3.24)	2.11 (1.61, 2.64)	2.00 (1.45, 2.50)
NLR	0.33 (0.18, 0.54)	0.35 (0.17, 0.64)	0.31 (0.16, 0.57)	0.31 (0.12, 0.66)
Porcentaje de positividad (%)	32.4 (122/376) (28.0, 36.9)		44.8 (104/232) (38.7, 50.9)	

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; PLR = Cociente de verosimilitudes positivo; NLR = Cociente de verosimilitudes negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

El rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit a la hora de detectar \geq CIN2 y \geq CIN3 en mujeres con HPV18+ con la citología Papanicoláu NILM se refleja en la Tabla 24.

En la población de mujeres con HPV18+ mediante cobas® 6800/8800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad fueron del 75.0 % y del 73.3 %, respectivamente, en \geq CIN2 y del 66.7 % y del 72.1 %, respectivamente, en \geq CIN3. Los valores de PPV fueron del 9.7 % y del 3.2 % en \geq CIN2 y en \geq CIN3, respectivamente, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 1.3 % y del 0.6 % en \geq CIN2 y en \geq CIN3, respectivamente.

En la población de mujeres con HPV18+ mediante cobas® 4800 system con la citología Papanicoláu NILM, la sensibilidad y especificidad fueron del 85.7 % y del 68.3 %, respectivamente, en \geq CIN2 y del 66.7 % y del 65.7 %, respectivamente, en \geq CIN3. Los valores de PPV fueron del 15.8 % y del 5.3 % en \geq CIN2 y en \geq CIN3, respectivamente, mientras que, en cuanto al riesgo de padecer la enfermedad, en mujeres con resultados negativos mediante CINtec PLUS Cytology Kit (1-NPV) fueron del 1.4 % para ambas líneas de corte de la patología.

Tabla 24. Rendimiento de CINtec PLUS Cytology Kit en mujeres con HPV18+ de entre 30 y 65 años con citología NILM.

Medición de rendimiento	cobas® 6800/8800 system, HPV18+/NILM		cobas® 4800 system, HPV18+/NILM	
	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3	Diagnóstico CPR de \geq CIN2	Diagnóstico CPR de \geq CIN3
Sensibilidad (%)	75.0 (6/8) (40.9, 92.9)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)	85.7 (6/7) (48.7, 97.4)	66.7 (2/3) (20.8, 93.9)
Especificidad (%)	73.3 (154/210) (67.0, 78.9)	72.1 (155/215) (65.7, 77.7)	68.3 (69/101) (58.7, 76.6)	65.7 (69/105) (56.2, 74.1)
Prevalencia (%)	3.7 (8/218)	1.4 (3/218)	6.5 (7/108)	2.8 (3/108)
PPV (%)	9.7 (6/62) (5.4, 13.1)	3.2 (2/62) (1.0, 5.0)	15.8 (6/38) (9.2, 21.1)	5.3 (2/38) (1.7, 8.3)
NPV (%)	98.7 (154/156) (97.0, 99.6)	99.4 (155/156) (98.5, 99.9)	98.6 (69/70) (95.0, 99.7)	98.6 (69/70) (96.6, 99.7)
1-NPV (%)	1.3 (2/156) (0.4, 3.0)	0.6 (1/156) (0.1, 1.5)	1.4 (1/70) (0.3, 5.0)	1.4 (1/70) (0.3, 3.4)
PLR	2.81 (1.49, 3.97)	2.39 (0.73, 3.74)	2.71 (1.46, 3.87)	1.94 (0.59, 3.18)
NLR	0.34 (0.10, 0.81)	0.46 (0.09, 1.11)	0.21 (0.04, 0.76)	0.51 (0.09, 1.24)
Porcentaje de positividad (%)	28.4 (62/218) (22.6, 34.3)		35.2 (38/108) (26.5, 43.8)	

Nota: CPR = Revisión anatomopatológica central; PPV = Valor predictivo positivo; NPV = Valor predictivo negativo; PLR = Cociente de verosimilitudes positivo; NLR = Cociente de verosimilitudes negativo; los números que aparecen entre paréntesis son (n/N) e intervalos de confianza del 95 % bilaterales.

RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

- Si el dispensador del reactivo no dispensa el líquido, compruebe la cámara de cebado o el menisco por si hubiera restos de materiales extraños o partículas, como fibras o precipitados. Si se ha bloqueado el dispensador, no lo utilice y póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche. En caso contrario, vuelva a cebar el dispensador colocándolo sobre el recipiente de residuos, retirando el tapón de la boquilla y presionando hacia abajo la parte superior del dispensador.
- Es posible que se observe, en ocasiones, una cristalización que se origina en el dispensador de CINtec PLUS Red Naphthol Phosphate. Las investigaciones han demostrado que los cristales no producen interferencias durante la interpretación de los resultados. Si se observan cristales en los portaobjetos, limpie la punta de la boquilla y cebe el dispensador para garantizar que se elimina cualquier resto de la cristalización. Si el cristal no desaparece, deje de usar el dispositivo y póngase en contacto con el representante local de asistencia técnica de Roche para que reemplace el dispensador.
- Si el control positivo presenta una tinción más débil de lo previsto, compruebe que el protocolo que ha seleccionado se corresponde con el tipo de muestra específico; por ejemplo, en las preparaciones de citología SurePath es necesario aplicar un período de acondicionamiento celular más prolongado que en las preparaciones de portaobjetos ThinPrep o con frotis convencionales. Además, es necesario comprobar que en los cilindros de los dispensadores no hay restos de partículas.
- Si el control positivo es negativo, debe asegurarse de que el portaobjetos lleva la etiqueta de código de barras correcta. Si el portaobjetos se ha etiquetado correctamente, es necesario comprobar que en los cilindros de los dispensadores no hay restos de partículas.
- Si se observa una tinción elevada de fondo, reduzca los periodos de incubación en los protocolos de tinción. Además, compruebe que el fluido Reaction Buffer se ha formulado de forma correcta.

- Si se observa una tinción débil, aumente los periodos de incubación en los protocolos de tinción. En el caso de los portaobjetos con frotis convencionales, también es posible ajustar el período de incubación del acondicionamiento celular.
- El precipitado rojo que sirve para indicar la expresión de la proteína Ki-67 es soluble en alcohol. Si la tinción de Ki-67 es débil o no está presente, compruebe que no se ha utilizado hematoxilina con alcohol y que el procedimiento de procesamiento post-instrumento recomendado se llevó a cabo según las instrucciones del Procedimientos de procesamiento post-instrumento: medios y montador.
- Si la muestra se desprende del portaobjetos, es necesario que se comprueben los portaobjetos para garantizar que se ha preparado la muestra de forma adecuada según la sección Preparación de muestras y que se ha utilizado el tipo de portaobjetos para microscopio recomendado.
- Si necesita llevar a cabo acciones correctivas, consulte la sección Procedimiento de tinción, el Manual del usuario del instrumento o póngase en contacto con su representante local de asistencia técnica de Roche.
- Si se pierde un tapón de muestra RCCM o si se producen derrames del vial de muestra, se pueden pedir los tapones de repuesto (suellos, bolsa de 250, ref. 08037230190 o caja de 8 bandejas de 48, ref. 06913512001).

REFERENCIAS

- Kim WY, Sharpless NE. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging. Cell. 2006 Oct 20;127(2):265-75.
- Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis Markers. 2007;23:315-30.
- 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(10):2536-2545.
- Roelens J, Reuschenbach M, von Knebel Doeberitz M, et al. p16INK4a immunocytochemistry versus human papillomavirus testing for triage of women with minor cytologic abnormalities: a systematic review and meta-analysis. Cancer Cytopathol. 2012;120(5):294-307.

5. 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.
6. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182:311-22.
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 Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol.* 2011;119(3):158-66.
8. 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):505-9.
9. Ravarino A, Nemolato 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):652-6.
10. 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.
11. Ikenberg H, Bergeron C, Schmidt D, et al. 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.
12. Wentzensen N, Fetterman B, Castle PE, et al. p16/Ki-67 Dual Stain Cytology for Detection of Cervical Precancer in HPV-Positive Women. *J Natl Cancer Inst.* 2015 Sep 15;107(12):djv257.
13. Uijterwaal MH, Polman NJ, Witte BI, et al. Triage of HPV-positive women with normal cytology by p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: baseline and longitudinal data. *Int J Cancer.* 2015;136(10):2361-68.
14. 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.
15. Bergeron C, Ikenberg H, Sideri M, et al. Prospective evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology for managing women with abnormal Papanicolaou cytology: PALMS study results. *Cancer Cytopathol.* 2015. 123(6):373-81.
16. Dona MG, Vocaturo A, Giuliani M, et al. p16/Ki-67 dual staining in cervico-vaginal cytology: Correlation with histology, Human Papillomavirus detection and genotyping in women undergoing colposcopy. *Gynecol Oncol.* 2012;126(2):198-202.
17. Allia E, Ronco G, Coccia A, et al. Interpretation of p16(INK4a) /Ki-67 dual immunostaining for the triage of human papillomavirus-positive women by experts and nonexperts in cervical cytology. *Cancer Cytopathol.* 2015;123(4):212-218.
18. Gustinucci D, Giorgi Rossi P, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening. *Am J Clin Pathol.* 2016; 145(1):35-45.
19. Rossi P, Borghi L, Ferro R, Mencarelli R. A population of 1136 HPV DNA-HR positive women: expression of p16(INK4a)/Ki67 Dual-Stain Cytology and cytological diagnosis. Histological correlations and cytological follow up. *Pathologica.* 2015;107(3-4):185-191.
20. Wright TC Jr, Behrens CM, Ranger-Moore J, et al. Triage of HPV-positive women with p16/Ki-67 dual-stained cytology: Results from a sub-study nested into the ATHENA trial. *Gynecol Oncol.* 2017;144:51-56.
21. Clarke MA, Cheung LC, Castle PE, et al. Five-Year Risk of Cervical Precancer Following p16/Ki-67 Dual-Stain Triage of HPV-Positive Women. *JAMA Oncol.* 2019;5(2):181-186.
22. Wentzensen N, Clarke MA, Bremer R, et al. Clinical Evaluation of Human Papillomavirus Screening With p16/Ki-67 Dual Stain Triage in a Large Organized Cervical Cancer Screening Program. *JAMA Intern Med.* 2019;179(7):881-888.
23. Wentzensen N, Fetterman B, Tokugawa D, et al. Interobserver reproducibility and accuracy of p16/Ki-67 dual-stain cytology in cervical cancer screening. *Cancer Cytopathol.* 2014;122(12):914-20.
24. Arean-Cuns C, Mercado-Gutierrez M, Paniello-Alastruey I, et al. Dual staining for p16/Ki67 is a more specific test than cytology for triage of HPV-positive women. *Virchows Arch.* 2018;473(5):599-606.
25. Ebisch RMF, van der Horst J, Hermesen M, et al. Evaluation of p16/Ki-67 dual-stained cytology as triage test for high-risk human papillomavirus-positive women. *Mod Pathol.* 2017;30(7): 1021-1031.
26. Waldstrøm M, Christensen RK, Ornskov D. Evaluation of p16INK4a/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.
27. Killeen JL, Dye T, Grace C, et al. Improved Abnormal Pap Smear Triage Using Cervical Cancer Biomarkers. *J Low Genit Tract Dis.* 2014;18(1):1-7.
28. Uijterwaal MH, Witte BI, Van Kemenade FJ, et al. Triage of borderline/mild dyskaryotic Pap cytology with p16/Ki-67 dual-stained cytology testing: cross-sectional and longitudinal outcome study. *Br J Cancer.* 2014;110(6):1579-86.
29. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
30. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
31. Nayar R and Wilbur DC, eds. *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria, and Explanatory Notes.* 3rd ed. 2015, Springer International Publishing: Switzerland.

NOTA: En este documento se ha usado el punto como separador decimal para marcar el borde entre la parte entera y la parte fraccionaria de los numerales con decimales. No se han usado separadores para las unidades de millar.

El resumen de los aspectos de seguridad y rendimiento se puede ver a continuación: <http://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Símbolos

Ventana usa los siguientes símbolos y signos además de los indicados en la norma ISO 15223-1 (para EE. UU.: consulte en dialog.roche.com la definición de los símbolos usados):



Número mundial de artículo comercial



Identificador único del dispositivo

HISTORIAL DE REVISIONES

Rev.	Actualizaciones
G	Se han actualizado las secciones Advertencias y precauciones, Símbolos e Información de contacto.

PROPIEDAD INTELECTUAL

VENTANA, BENCHMARK, CINTEC, COBAS y el logotipo de VENTANA son marcas comerciales de Roche. Todas las demás marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

© 2023 Ventana Medical Systems, Inc.

INFORMACIÓN DE CONTACTO



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany
+800 5505 6606

www.roche.com



0123

Farm. ROBERTA NILE MAZZA
PRODUCES ROCHE S.A. del.
Division Diagnostica
DI & APODARADA LEGAL



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: PRODUCTOS ROCHE S.A.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 33 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.05.29 11:26:16 -03:00

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.05.29 11:26:17 -03:00



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
AÑO DE LA DEFENSA DE LA VIDA, LA LIBERTAD Y LA PROPIEDAD

Certificado - Redacción libre

Número:

Referencia: 1-0047-3110-001426-24-0

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN
PRODUCTO MÉDICO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

Expediente N° 1-0047-3110-001426-24-0

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. ; se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto con los siguientes datos identificatorios característicos:

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERÍSTICOS

Nombre Descriptivo: CINtec p 16 Histology y CINtec PLUS Cytology Kit.

Marca comercial: VENTANA

Modelos:

- 1) (N° de catálogo Roche: 06695248001, N° de catálogo Ventana: 805-4713) CINtec p 16 Histology.
- 2) (N° de catálogo Roche: 06695256001, N° de catálogo Ventana: 825-4713) CINtec p 16 Histology.
- 3) (N° de catálogo Roche: 06889565001, N° de catálogo Ventana: 605-100) CINtec PLUS Cytology Kit.

Indicación/es de uso:

1) y 2) CINtec p16 Histology es un ensayo de inmunohistoquímica para la detección cualitativa de la proteína p16INK4a en secciones de tejido fijado con formol y embebido en parafina preparado a partir de biopsias de cuello de útero. Está indicado para su uso junto con los portaobjetos de tinción H y E que se han preparado a partir de la misma muestra de tejido de cuello de útero como ayuda en el aumento de la precisión del diagnóstico y la concordancia entre observadores para el diagnóstico de neoplasias intraepiteliales de alto grado.

La interpretación de este producto debe correr a cargo de un anatomopatólogo cualificado junto con un examen histológico, la información clínica pertinente y los controles adecuados.

3) El kit CINtec PLUS Cytology Kit es un ensayo de inmunohistoquímica dedicado a la detección cualitativa simultánea de las proteínas p16INK4a y Ki-67 en preparaciones de citología de cuello de útero. Se ha concebido como ayuda en la identificación de mujeres con lesiones intraepiteliales de cuello de útero de evolución rápida en los cribados de población y en subgrupos de pacientes cuyos resultados de la citología de cuello uterino (prueba de Papanicoláu) muestran la presencia de ASC-US (células escamosas atípicas de importancia no determinada) o LSIL (lesión escamosa intraepitelial de escasa malignidad) y en aquellos pacientes con resultados positivos a la prueba de VPH que indican la existencia de un alto riesgo de contraer la enfermedad.

Forma de presentación: 1) Envases por 50 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 5 ml de anticuerpo.

2) Envases por 250 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 25 ml de anticuerpo.

3) Envases por 100 determinaciones, conteniendo: 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Primary Antibody Cocktail (p16/Ki-67), 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red anti-Rabbit NP Linker, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red AP Multimer, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Red Naphthol, un dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology Fast Red, 2 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB Peroxidase Inhibitor, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB anti-Mouse HQ Linker, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB HRP Multimer, 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB y 1 dispensador x 10 ml de CINtec PLUS Cytology DAB H2O2.

Período de vida útil: 1) a 3) 24 (VEINTICUATRO) meses desde la fecha de elaboración, conservado entre 2-8 °C.

Nombre del fabricante:

1-2) Ventana Medical Systems Inc.

3) Ventana Medical Systems Inc. para Roche Diagnostics GmbH.

Lugar de elaboración:

1-2) 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755, Estados Unidos.

3) 1910 E. Innovation Park Drive, Tucson, AZ 85755, Estados Unidos para Sandhofer Strasse 116, 68305, Mannheim, Alemania.

Grupo de Riesgo: Grupo C

Condición de uso: Uso profesional exclusivo

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO PM 740-866 , con una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la Disposición autorizante.

1-0047-3110-001426-24-0

N° Identificador Trámite: 56984

AM

Digitally signed by PEARSON Enriqueta María
Date: 2024.06.03 18:29:05 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL
ELECTRONICA - GDE
Date: 2024.06.03 18:29:06 -03:00