

Cervista™ HPV HR

REF 92-011, PRD-01560


**UITSLUITEND VOOR EXPORT.
NIET VOOR VERKOOP IN DE VERENIGDE STATEN
VAN AMERIKA OF CANADA.**

BEOOGD GEBRUIK

De Cervista HPV HR-test wordt in twee gevallen gebruikt:

1. In combinatie met een cervicale cytologiescreening voor vrouwen van 30 jaar en ouder als leidraad voor de behandeling van de patiënte.
2. Voor het selecteren van patiënten met atypische plaveiselcellen met onbepaalde significantie (ASC-US, atypical squamous cells of undetermined significance) als uitslag van een cervixuitstrijkje om de noodzaak van doorverwijzing voor colposcopie te bepalen.

92-011-  96
PRD-01560-  384

-30 °C  -15 °C



Geautoriseerde vertegenwoordiger voor de Europese Gemeenschap:
Hologic Ltd.
Heron House Oaks Business Park
Crewe Road
Wythenshawe, Manchester
M23 9HZ, Verenigd Koninkrijk
Tel: +44 (0)161 946 2206
Fax: +44 (0)161 602 0995
Email: AuthorisedRepresentativeEurope@hologic.com

**Niet bewaren in een zelfontdooiende vriezer.
Beschermen tegen licht.**

INHOUDSOPGAVE

BEOOGD GEBRUIK	1
GEBRUIKTE AFKORTINGEN	3
SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST	4
PRINCIPES VAN DE PROCEDURE	4
MEEGELEVERDE REAGENTIA.....	6
WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMATREGELEN.....	7
VEREISTEN VOOR OPSLAG EN HANTERING	7
AANVULLENDE REAGENTIA EN MATERIALEN	7
BENODIGDE, MAAR NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN.....	7
Verbruiksartikelen.....	7
Apparatuur.....	8
MONSTERAFNAME, DNA-EXTRACTIE EN OPSLAG VOOR ANALYSE	8
TESTPROCEDURE VOOR HET CERVISTA MTA-SYSTEEM.....	8
HANDMATIGE TESTPROCEDURE VOOR CERVISTA HPV HR	9
Reactieprocedure.....	9
Gegevens verzamelen.....	9
OPMERKINGEN BIJ DE PROCEDURE EN VOORZORGSMATREGELEN.....	10
BEOORDELING VAN RESULTATEN	10
TERMINOLOGIE.....	11
KWALITEITSCONTROLE.....	12
Negatieve controle	12
HPV-controles	12
Test verifiëren.....	12
BEPERKINGEN	13
WERKINGSEIGENSCHAPPEN	13
Resultaten in klinisch onderzoek	13
NAUWKEURIGHEID	19
Werking van de Cervista HPV HR-test.....	21
PROBLEMEN OPLOSSEN: HANDMATIGE TESTPROCEDURE VOOR CERVISTA HPV HR	22
PROBLEMEN MET HET CERVISTA MTA-SYSTEEM OPLOSSEN ...	26
LITERATUUR.....	27

GEBRUIKTE AFKORTINGEN

ASC-US:	Atypische squameuze cellen, significantie niet bepaald
CIN:	Cervicale intra-epitheliale neoplasie
DNA:	Desoxyribonucleïnezuur
FAM:	Carboxyfluoresceïne kleurstof
FRET:	Fluorescentieresonantie-energieoverdracht
FOZ:	Fold over zero (monster of controlesignaal gedeeld door No Target Control-sigtaal)
gDNA:	Genoom-DNA
HIST2H2BE:	Humaan histon 2-gen, H2be-gen
HPV:	Humaan papillomavirus
HR:	Hoog risico
Max:	Maximum
Min:	Minimum
MTA:	Medium Throughput Automation
NTC:	No Target Control
Oligo:	Oligonucleotide
Pap:	Papanicolau cervicale cytologietest
Red:	Redmond rode kleurstof
RFU:	Relatieve fluorescentie-eenheid

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST

Elk jaar worden in de VS circa 11.000 nieuwe gevallen van invasieve baarmoederhalskanker en meer dan 3.500 doden gemeld.¹ Voor het vroegste stadium van baarmoederhalskanker is de relatieve overleving na 5 jaar 92% en voor alle stadia van baarmoederhalskanker is de overleving na 5 jaar ongeveer 72%.¹ Baarmoederhalskanker wordt veroorzaakt door een persisterende infectie met het humaan papillomavirus (HPV).² In het verleden is gebleken dat baarmoederhalskanker zeer goed te voorkomen is, als cytologische en HPV-screeningprogramma's worden gebruikt ter bevordering van detectie en behandeling van voorstadia van kanker.

In de literatuur wordt melding gemaakt van meer dan 100 typen HPV, waarvan ongeveer 40 typen het anogenitale gebied infecteren en seksueel overdraagbaar zijn. Van de seksueel overdraagbare vormen van HPV worden 14 oncogene genotypen (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68), waarnaar wordt verwezen als typen met hoog risico (HR), gezien als de oorzaak van vrijwel alle baarmoederhalskankers.^{1,2} De aanwezigheid van hoog-risico HPV-DNA in combinatie met een twijfelachtig of onduidelijk cytologieresultaat (ASC-US) maakt dat een vrouw een verhoogd risico heeft van een onderliggende cervicale intra-epitheliale neoplasie 2 of 3 (CIN 2 of CIN 3).^{4,6,7} CIN 3, een vorm die slechts bij circa 5% van de ASC-US-gevallen voorkomt,⁵ is een directe precursor voor baarmoederhalskanker en daarom is de detectie ervan uiterst belangrijk voor de behandeling van de patiënt.² Om die reden is de identificatie van die vrouwen met ASC-US-cytologie in combinatie met een hoog-risico HPV-infectie een nuttig hulpmiddel voor artsen om te bepalen wie gecontroleerd moet worden en wie een agressievere behandeling moet ondergaan.^{2,4,8,9}

Sinds 2002 worden door verschillende groepen Amerikaanse deskundigen in de gezondheidszorg richtlijnen gepubliceerd voor de behandeling van patiënten, waarin wordt geadviseerd hoe vrouwen gescreend moeten worden op baarmoederhalskanker, gebaseerd op leeftijd, de aanwezigheid van cytologische afwijkingen in een cervixuitstrijkje en andere factoren.^{6,10,11} Deze richtlijnen voor behandeling adviseren te testen op de aanwezigheid van hoog-risicotypen van HPV als standaard screeningsmiddel, gecombineerd met cytologie in speciale gevallen. De voornaamste adviezen uit de meest recente professionele richtlijnen voor behandeling, de *2006 Consensus Guidelines for the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests*, zijn: 1) screenen van vrouwen van 30 jaar en ouder, gecombineerd met cytologie of andere screeningsmethoden, en 2) behandeling van vrouwen van 20 jaar en ouder met ASC-US.^{3,11} In alle gevallen moet de behandeling van een patiënt gebaseerd zijn op de gehele cytologische voorgeschiedenis en overige risicofactoren naast de aanwezigheid of afwezigheid van hoog-risico HPV-typen.^{6,8,11}

PRINCIPES VAN DE PROCEDURE

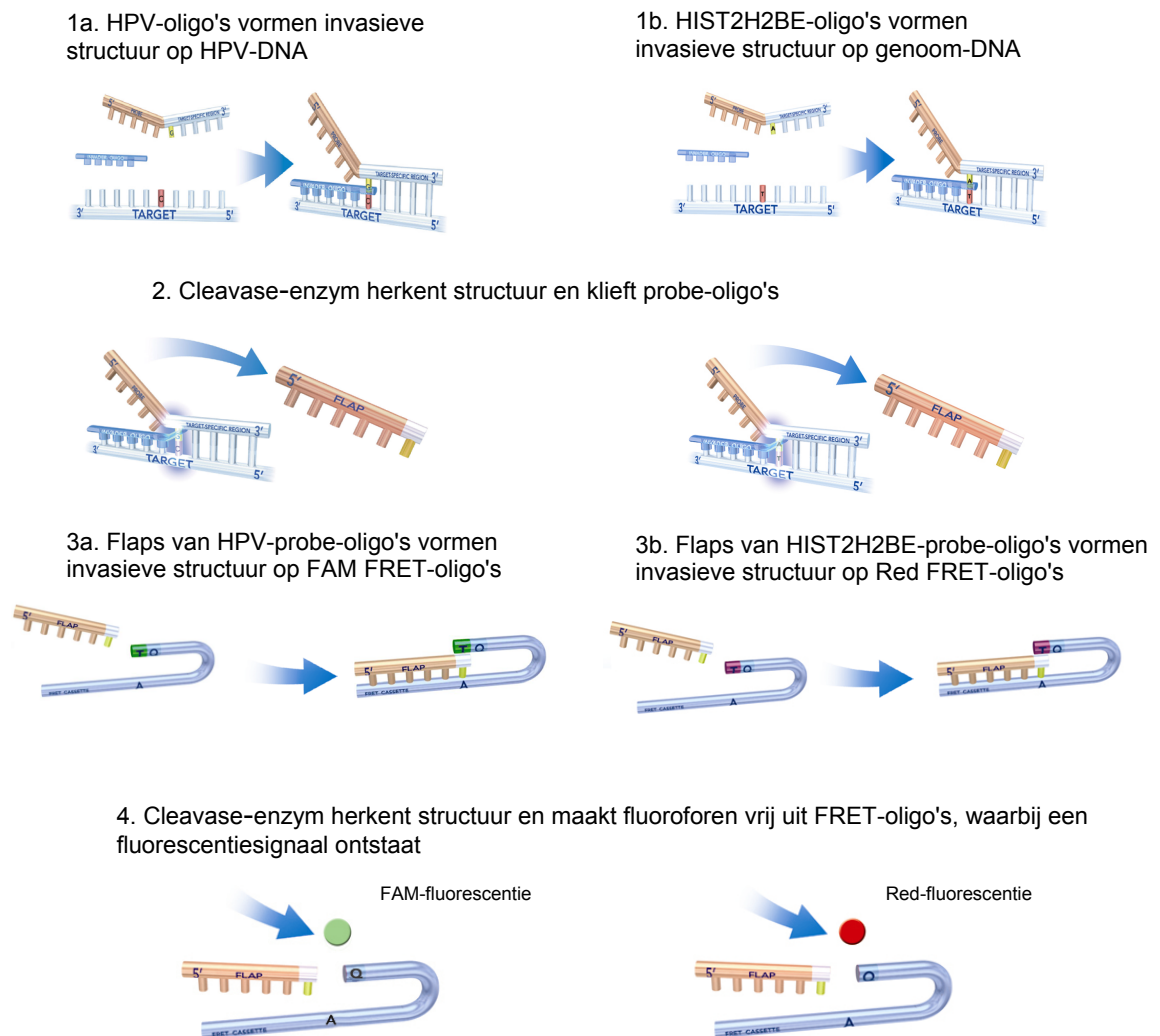
Cervista HPV HR is een kwalitatieve, *in-vitro* diagnostische test voor de detectie van DNA van 14 hoog-risico HPV-typen, namelijk type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68.

De Cervista HPV HR-test maakt gebruik van de Invader™ chemische procedure, een signaalversterkingsmethode voor de detectie van specifieke nucleïnezuursequenties. Deze methode maakt gebruik van twee soorten isothermische reacties: een primaire reactie die optreedt op de DNA-targetsequentie en een secundaire reactie die een fluorescent signaal produceert (zie afbeelding 1). In de primaire reactie zijn er twee soorten sequentiespecifieke oligonucleotiden (d.w.z. een probe-oligonucleotide en een Invader-oligonucleotide) die aan de DNA-targetsequentie binden. Als deze oligonucleotiden elkaar overlappen met ten minste één basepaar op de targetsequentie, wordt er een invasieve structuur gevormd die fungeert als substraat voor het Cleavase™-enzym. Het enzym klieft het 5' deel (flap) van de probe op de plaats van de overlapping.

De probes zijn aanwezig in een grote molaire overmaat en draaien snel op en weg van de targetsequentie, zodat er veel gekliefde 5' flaps per targetsequentie worden gegenereerd. De gekliefde flaps binden vervolgens aan een universeel haarspeld-FRET- (fluorescentieresonantie-energieoverdrachts-) oligonucleotide, waardoor een andere invasieve structuur wordt gevormd dat door het Cleavase-enzym wordt herkend als een substraat. Het enzym klieft de FRET-oligonucleotiden tussen het fluorofoor en quencher molecuul en produceert een fluorescentiesignaal door de cyclische beweging van de gekliefde flaps. Voor elke kopie van de target resulteren de gecombineerde primaire en secundaire reacties in een 10^6 – 10^7 -voudige signaalversterking per uur.¹² De flapsequenties en FRET-oligonucleotiden zijn universeel, omdat ze niet complementair aan de targetsequentie zijn.

De reagentia voor deze assay worden geleverd als drie oligonucleotidemengsels die de 14 typen HPV detecteren op grond van de fylogenetische relatie, d.w.z. virale typen met gelijksoortige DNA-sequenties. Oligonucleotiden die aan het humaan histon 2-gen (H2be, HIST2H2BE) binden, zijn ook aanwezig in deze drie oligonucleotidemengsels. HIST2H2BE dient als een interne controle door een semikwantitatief signaal te produceren, afkomstig van het genoom-DNA in het monster. De opzet van de Cervista HPV HR-test maakt het mogelijk HPV-DNA-sequenties en HIST2H2BE gelijktijdig in één well te detecteren door gebruik te maken van twee verschillende 5'-flapsequenties op de probes en van twee verschillende FRET-oligonucleotiden, elk met een spectraalspecifieke fluorofor (FAM en Red). Door hun opbouw binden de vrijgemaakte 5'-flaps alleen aan hun respectieve FRET-oligonucleotiden, zodat een targetspecifiek signaal wordt gegenereerd (zie afbeelding 1).

Een positief resultaat duidt erop dat er minimaal één van de 14 hoog-risicotypen aanwezig is in het DNA-monster. Dit resultaat wordt weergegeven door een FAM fluorescent signaal dat boven een empirisch afgeleide cut-offwaarde ligt. Bij elke reactie wordt een negatief resultaat weergegeven door een FAM fluorescent signaal dat onder een empirisch afgeleide cut-offwaarde ligt. Als middel om de relatieve hoeveelheid monster-DNA in elke reactie te bepalen, wordt humaan HIST2H2BE gemeten door een Red fluorescent signaal dat bij elke reactie boven een empirisch afgeleide cut-offwaarde ligt. De maat van deze target dient als een kwaliteitscontrolemechanisme om te bevestigen dat een negatief resultaat niet het gevolg is van een ontoereikend monster.



Afbeelding 1: Een grafische weergave van de Invader chemische procedure in Cervista HPV HR

MEEGELEVERDE REAGENTIA

Opmerking: Informatie over eventuele gevarenaanduidingen en veiligheidsmaatregelen die met reagentia in verband worden gebracht, vindt u in de Safety Data Sheet Library (bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen) op www.hologic.com/sds.

Tabel 1: Cervista HPV HR Inhoud

Reagens	Afkorting flaconetiket	Inhoud flacon en reagensvolume (REF 92-011)	Inhoud flacon en reagensvolume (REF PRD-01560)	Beschrijving componenten
HPV Oligo Mix 1	O1 (blauwe dop en blauwe streep)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleotiden met affiniteit voor HPV-typen 51, 56 en 66, gesuspenseerd in water en MOPS-buffer (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 2	O2 (gele dop en gele streep)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleotiden met affiniteit voor HPV-typen 18, 39, 45, 59 en 68, gesuspenseerd in water en MOPS-buffer (pH 7,5)
HPV Oligo Mix 3	O3 (oranje dop en oranje streep)	1 x 1400 µL	8 x 1400 µL	Oligonucleotiden met affiniteit voor HPV-typen 16, 31, 33, 35, 52 en 58, gesuspenseerd in water en MOPS-buffer (pH 7,5)
Cleavase-Enzyme Solution	E (paarse dop en paarse streep)	1 x 1100 µL	8 x 970 µL	Cleavase-enzym gesuspenseerd in 140 mM MgCl ₂ , 10 mM Tris (pH 8,0), 25 mM KCl, 0,25% Tween 20, 0,25% Nonidet P40, 25% glycerol en 0,05 mg/mL BSA
HPV Control 1	C1 (doorzichtige dop en zwarte streep)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 kopieën/µL gekloneerd HPV type 51 DNA en 3000 kopieën/µL gekloneerd HIST2H2BE DNA in gist-tRNA en 10 mM Tris, 0,1 mM EDTA-buffer
HPV Control 2	C2 (doorzichtige dop en zwarte streep)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 kopieën/µL gekloneerd HPV type 18 DNA en 3000 kopieën/µL gekloneerd HIST2H2BE DNA in gist-tRNA en 10 mM Tris, 0,1 mM EDTA-buffer
HPV Control 3	C3 (doorzichtige dop en zwarte streep)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	1000 kopieën/µL gekloneerd HPV type 16 DNA en 3000 kopieën/µL gekloneerd HIST2H2BE DNA in gist-tRNA en 10 mM Tris, 0,1 mM EDTA-buffer
No Target Control	NTC (doorzichtige dop en zwarte streep)	1 x 350 µL	8 x 350 µL	Gist-tRNA en 10 mM Tris, 0,1 mM EDTA-buffer

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.
2. De algemeen geldende veiligheidsvoorzorgsmaatregelen moeten worden gevolgd bij het hanteren van menselijke weefsels of vloeistoffen. Monsters moeten volgens de ter plaatse geldende vereisten worden afgevoerd.
3. Voeg geen reagentia van verschillende lots of van verschillende flacons uit dezelfde lot samen.
4. Reagentia niet gebruiken na de uiterste gebruiksdatum.
5. Productbestanddelen (productrestanten, verpakking) kunnen als laboratoriumafval worden beschouwd. Voer ongebruikte reagentia en afval af overeenkomstig de toepasselijke landelijke, provinciale en lokale regelgeving.

VEREISTEN VOOR OPSLAG EN HANTERING

- Bewaar alle reagentia bij temperaturen tussen -30 °C en -15 °C.
- Gebruik de reagentia niet als de uiterste gebruiksdatum, vermeld op de buitenzijde van de verpakking, is verstreken.
- Niet bewaren in een zelfontdooiende vriezer.
- Beschermen tegen licht.
- Neem vóór gebruik de reagentia uit de vriezer en laat deze ontdooien gedurende minimaal 30 minuten bij kamertemperatuur of tot er geen bevroren materiaal meer zichtbaar is.
- Vortex de reagentia vóór elk gebruik.
- Hologic adviseert de Cervista HPV HR-testreagentia niet vaker dan zes (6) maal te bevriezen en weer te ontdooien.
- Bereid de reactiemengsels vóór elk gebruik. Het bereide reactiemengsel moet binnen 30 minuten worden gebruikt.

AANVULLENDE REAGENTIA EN MATERIALEN

De Invader Call Reporter™-software is een noodzakelijk onderdeel van deze IVD-test. Deze software wordt eenmaal geleverd bij de eerste bestelling van de Cervista HPV HR-test en vervolgens als er incrementele updates voor de software beschikbaar zijn. Neem contact op met uw lokale vertegenwoordiger als u meer exemplaren nodig hebt.

De Genfind® DNA Extraction Kit is een accessoire van de Cervista HPV HR-test. Neem contact op met uw lokale vertegenwoordiger om de Genfind DNA Extraction Kit ([REF](#) 95-449) te bestellen.

BENODIGDE, MAAR NIET MEEGELEVERDE MATERIALEN

Verbruiksartikelen

- Pipettips, met filterbarrière en nucleasevrij
- 96-wells polypropyleenplaten
- Doorzichtige plaatsealers
- Minerale olie, van moleculaire biologie-kwaliteit
- 2,0 mL steriele polypropyleen buisjes en schroefdoppen

Apparatuur

- Cervista MTA-systeem voor gebruikers van automatisering
- Pipetten
- Vortex-apparaat
- Tecan® Infinite™ F200-, Tecan GENios™- of BioTek® FLx800™-fluorescentieplaatlezer
- Desktopcomputer met besturingssysteem Microsoft® Windows® XP of Windows 7 en Microsoft Excel- en Adobe® Reader®-software.
- PCR-apparaat of oven, geschikt voor het handhaven van de juiste reactietemperaturen

MONSTERAFNAME, DNA-EXTRACTIE EN OPSLAG VOOR ANALYSE

Cervixmonsters die met de Cervista HPV HR-test kunnen worden getest omvatten:

- monsters in een PreservCyt™-oplossing, het ThinPrep™ Pap-test bewaarsysteem, afgenomen met een goedgekeurd monsterafnamehulpmiddel.
- monsters afgenomen in een SurePath™-conserveringsvloeistof, afgenomen met een goedgekeurd monsterafnamehulpmiddel.

Cervixmonsters in PreservCyt-oplossing kunnen bij kamertemperatuur (20 – 30 °C) tot 24 weken worden bewaard, voordat de test moet worden uitgevoerd.

Cervixmonster in SurePath-conserveringsvloeistof kunnen bij kamertemperatuur (20 – 30 °C) tot 6 weken worden bewaard, voordat de test moet worden uitgevoerd.

De Genfind DNA Extraction Kit ([REF](#) 95-449) is gevalideerd voor gebruik met de Cervista HPV HR-test. De aanbevolen procedure voor DNA-extractie uit cervixmonsters in PreservCyt-oplossing of SurePath-conserveringsvloeistof staat vermeld in de gebruiksaanwijzing voor de Genfind DNA Extraction Kit.

Laboratoria die de Cervista HPV HR-test uitvoeren volgens een andere extractiemethode dan die in de meegeleverde, gevalideerde Genfind DNA Extraction Kit, zijn zelf verantwoordelijk voor het valideren van die methode.

DNA-monsters kunnen gedurende maximaal vier weken worden bewaard bij 2 tot 8 °C. Voor langduriger opslag moeten de monsters in een vriezer worden bewaard bij temperaturen tussen -30 °C en -15 °C.

TESTPROCEDURE VOOR HET CERVISTA MTA-SYSTEEM

Zie de Cervista MTA gebruikershandleiding (onderdeelnummer: MAN-02378-002) voor gebruik van het geautomatiseerde systeem voor het uitvoeren van de Cervista HPV HR-test.

HANDMATIGE TESTPROCEDURE VOOR CERVISTA HPV HR

Reactieprocedure

1. Voeg 10 μL van elke controle en monster-DNA toe aan drie wells in een 96-wells plaat, zoals aangegeven in de testplaatlay-out (zie afbeelding 2).

	Meng-sel 1	Meng-sel 2	Meng-sel 3	Meng-sel 1	Meng-sel 2	Meng-sel 3	Meng-sel 1	Meng-sel 2	Meng-sel 3	Meng-sel 1	Meng-sel 2	Meng-sel 3
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C1	C1	C1	S5	S5	S5	S13	S13	S13	S21	S21	S21
B	C2	C2	C2	S6	S6	S6	S14	S14	S14	S22	S22	S22
C	C3	C3	C3	S7	S7	S7	S15	S15	S15	S23	S23	S23
D	NTC	NTC	NTC	S8	S8	S8	S16	S16	S16	S24	S24	S24
E	S1	S1	S1	S9	S9	S9	S17	S17	S17	S25	S25	S25
F	S2	S2	S2	S10	S10	S10	S18	S18	S18	S26	S26	S26
G	S3	S3	S3	S11	S11	S11	S19	S19	S19	S27	S27	S27
H	S4	S4	S4	S12	S12	S12	S20	S20	S20	S28	S28	S28

Afbeelding 2: Plaatlay-out Cervista HV HR-test

2. Bedek elke well met 20 μL minerale olie en plaatafdektape om verdamping zoveel mogelijk te voorkomen.
3. Incubeer de monsters bij 95 °C gedurende 5 minuten in een PCR-apparaat.
4. Meng de reagentia en reactiemengsels grondig en consistent vóór elk gebruik.
5. Bereid de reactiemengsels zoals aangegeven in het formulier Mengselbereiding (afgedrukt uit de Invader Call Reporter-software) of volgens de berekeningen in tabel 2. Bereid één reactiemengsel voor elk van de drie HPV Oligo Mixes.

Tabel 2. Bereidingsinstructies reactiemengsel

Component	$\mu\text{L}/\text{well}$	Aantal reacties monsters en controles (k)	25% overschot	Totaal volume
HPV Oligo Mix 1, 2 of 3	8 μL	k	1,25	$=8k(1,25)$
Cleavase-enzymoplossing	2 μL	k	1,25	$=2k(1,25)$
Totaal volume mengsel	10 μL	k	1,25	$=10k(1,25) \mu\text{L}$

6. Verlaag de temperatuurinstelling van het PCR-apparaat tot 63 °C.
7. Voeg 10 μL van het juiste reactiemengsel toe aan elke well met een controle of monster (zie afbeelding 2), waarbij de pipettip onder de minerale olie moet worden geplaatst.
8. Incubeer de plaat bij 63 °C gedurende 4 uur.

Gegevens verzamelen

1. Laat de plaat altijd op kamertemperatuur komen alvorens deze af te lezen. Als de plaat niet onmiddellijk kan worden afgelezen, moet deze bij 2-8 °C worden bewaard (aanbevolen wordt de plaat binnen 24 uur na het voltooien van de test af te lezen).
2. Plaats de 96-wells plaat (met well A1 linksboven) in de plaathouder van de fluorescentieplaatlezer. Verwijder de afdektape van de plaat.
3. Definieer het plaattype om de coördinaten en probehoogte voor het specifieke plaattype in te stellen. Sla de instellingen op.
4. Lees de gehele plaat af. Er moeten twee afzonderlijke scans worden gemaakt: FAM (excitatie = 485 nm, emissie = 530 nm) en Red (excitatie = 560 nm, emissie = 612 nm). Voor detectie van het HPV-sigitaal moet het instrument eerst worden ingesteld op detectie van de FAM-kleurstof. Voor detectie van het genoom-DNA in het monster moet het instrument worden ingesteld op detectie van de Red-kleurstof.

5. Pas de versterking van de fluorescentieplaatlezer aan volgens de instructies van de fabrikant tot in het lineair-dynamische bereik van de lezer. De versterking moet zodanig worden ingesteld dat de NTC (No Target Control) waarden oplevert in de achtergrondmarge van de lezer, met een minimum RFU van 600. De NTC-waarden hoeven niet identiek te zijn voor FAM en Red.

OPMERKINGEN BIJ DE PROCEDURE EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Laboratoria moeten goede laboratoriumpraktijken hanteren en voldoen aan alle toepasselijke landelijke, provinciale en lokale regelgeving.
2. Meng de monsters, reagentia en reactiemengsels grondig en consistent.
3. Gebruik nucleasevrije, steriele, disposable aerosolbarrière-pipettips voor elke toevoeging en overbrenging om kruisbesmetting te voorkomen.
4. Gebruik nucleasevrije, disposable polypropyleen buisjes voor het bereiden van de reactiemengsels.
5. Controleer vóór de aanvang van de test of het 96-wells plaattype compatibel is met het te gebruiken specifieke PCR-apparaat en de fluorescentieplaatlezer.*
6. Gebruik uitsluitend gekalibreerde apparatuur.
7. Controles moeten worden toegevoegd aan de daarvoor bestemde posities op de testplaatlay-out, zoals aangegeven in afbeelding 2, zodat de Invader Call Reporter-software correct kan functioneren.
8. Gebruik verse minerale olie voor elke reactieset-up (plaats deze reagentia niet meer terug in de originele container nadat ze zijn gebruikt).
9. Raadpleeg de testplaatlay-out om te verzekeren dat het juiste mengsel aan de juiste kolom wordt toegevoegd.*
10. Plaats de pipettip altijd vlakbij de bodem van de well om te verzekeren dat het reactiemengsel onder de minerale olie wordt toegevoegd. Meng door de pipettip 3 - 5 keer voorzichtig te vullen en weer leeg te maken.*

*Opmerkingen 5, 9 en 10 zijn niet van toepassing voor het Cervista MTA-systeem.

BEOORDELING VAN RESULTATEN

Er wordt voor elk van de drie reacties een signaal-ruiswaarde (monstersignaal gemeten tegen het signaal van een No Target Control-reactiewell) gegenereerd. Deze signaal-ruiswaarde wordt ook FOZ (Fold-Over-Zero) genoemd. Er wordt een definitief positief, negatief of onbepaald resultaat voor elk specifiek monster gegenereerd, gebaseerd op de analyse van drie afzonderlijke reactiewells.

De ratio tussen HPV FOZ-waarden, gegenereerd door de drie reactiemengsels, bepaalt of een monster positief is. De HPV FOZ-ratio wordt berekend door de hoogste HPV FOZ-waarde van één van de drie reactiemengsels te delen door de laagste HPV FOZ-waarde van de drie. Als een FOZ-waarde lager is dan 1, wordt deze afgerond naar 1 om de ratio te berekenen. Als de HPV FOZ-ratio groter is dan of gelijk is aan 1,525, dan is het monster positief voor HPV. Echter, in een subset van gemengde infecties kunnen alle drie reactiewells een signaal genereren dat veel hoger is dan achtergrond. In bepaalde gevallen kunnen deze gemengde infecties positieve signalen genereren met gelijke intensiteit in alle drie reactiewells en daarmee een HPV FOZ-ratio geven van minder dan 1,525. Om de kans op een fout-negatief resultaat als gevolg van het drievoudig-positieve scenario hierboven genoemd, uit te sluiten, wordt een tweede berekening uitgevoerd en wel als volgt: als de FOZ-ratio minder is dan 1,525, maar de individuele FOZ-waarden van alle drie reacties zijn groter dan of gelijk aan een tweede cut-offwaarde van 1,93, dan is het monster positief voor HPV.

Een onbepaald resultaat wordt verkregen in drie verschillende gevallen, 1) als het % CV tussen de gDNA FOZ-waarden $\geq 25,0\%$ is (hoog % CV), 2) als alle drie HPV FOZ-waarden $< 0,7$ zijn (lage HPV FOZ) en 3) als de gemiddelde gDNA FOZ van een negatief monster $< 1,5$ is (laag gDNA).

Afbeelding 3 bevat een overzicht van de monsterresultaatcriteria zoals hierboven beschreven.

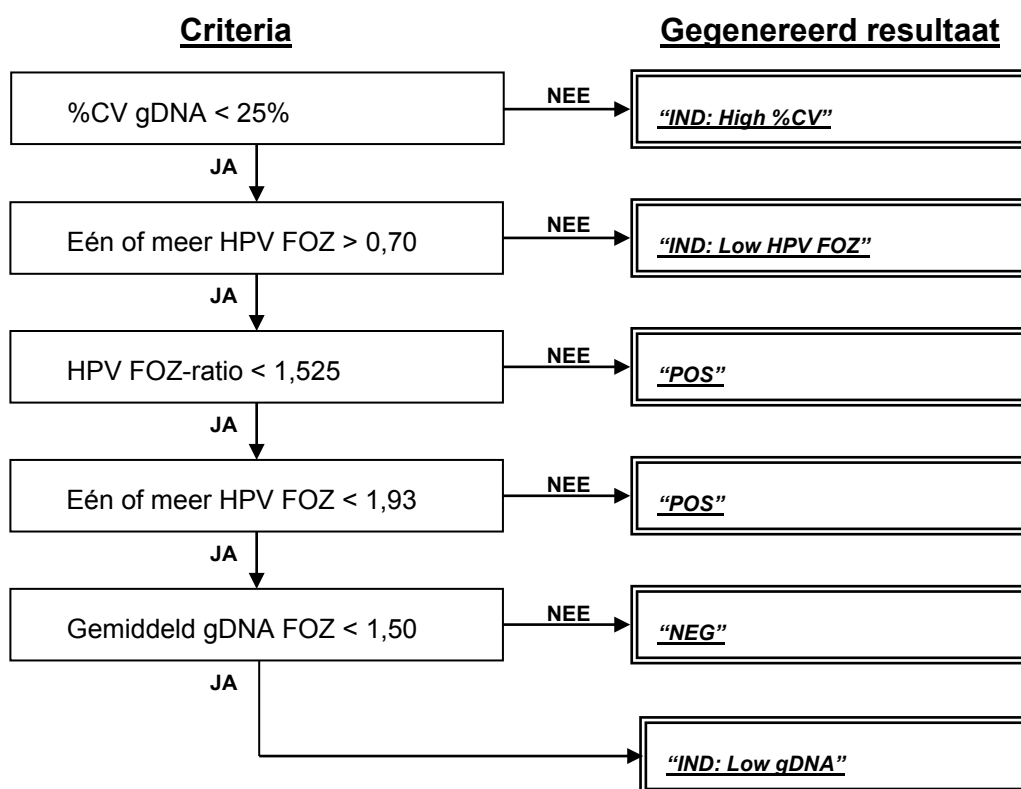
TERMINOLOGIE

HPV FOZ: Voor elke HPV Oligo Mix wordt het FAM-signaal van het monster gedeeld door het FAM-signaal van de No Target Control.

HPV FOZ-ratio: De hoogste HPV FOZ van de drie HPV Oligo Mixes gedeeld door de laagste HPV FOZ van de drie HPV Oligo Mixes (genormaliseerd tot 1,0 als FOZ lager is dan 1,0).

Gemiddeld gDNA FOZ: De gemiddelde waarde (bepaald aan de hand van de drie genoom-DNA FOZ-waarden), verkregen van elk van de drie reactiemengsels, berekend door het Red-signaal van het monster te delen door het Red-signaal van de No Target Control.

%CV gDNA FOZ: % variatiecoëfficiënt voor de gDNA FOZ-waarden, gegenereerd door de drie HPV Oligo Mixes.



Afbeelding 3: Monsterresultaatcriteria, geordend van boven naar beneden

KWALITEITSCONTROLE

Negatieve controle

1. De No Target Control moet de juiste resultaten opleveren om de monsters op die plaat geldig te laten zijn. Als de resultaten hier niet aan voldoen, zijn de monsters en controles van die plaat ongeldig en moet de test worden herhaald (zie tabel 3).
2. Het minimumsignaal voor elk van de drie mengsels moet groter zijn dan of gelijk zijn aan 600 RFU (≥ 600).
3. Het %CV van het gemiddelde HPV-sigitaal van alle drie mengsels moet lager zijn dan 25,0% ($< 25,0\%$); als dat niet het geval is, dan zijn de monsters en controles van die plaat ongeldig en moet het worden herhaald (zie tabel 3).
4. Het %CV van het gemiddelde gDNA-sigitaal van alle drie mengsels moet lager zijn dan 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabel 3: Criteria No Target Control

Resultaat	Min. HPV-sigitaal	Min. gDNA-sigitaal	Max. %CV (HPV en gDNA)
Geldig	600	600	24,9%

HPV-controles

1. HPV-controles (HPV Controls 1-3) moeten de juiste resultaten opleveren om de test geldig te laten zijn. Als de controles hier niet aan voldoen, zijn de monsters en controles van die plaat ook ongeldig en moet de test worden herhaald (zie tabel 4).
2. Een HPV FOZ-ratio wordt bepaald door de hoogste HPV FOZ van de drie reactiemengsels te delen door de laagste HPV FOZ van de drie (genormaliseerd tot 1,0 als deze lager is dan 1,0). HPV Control 1 moet alleen voor HPV Oligo Mix 1 een positieve HPV FOZ-waarde ($\geq 1,525$) opleveren, HPV Control 2 moet alleen voor HPV Oligo Mix 2 een positieve HPV FOZ-waarde ($\geq 1,525$) opleveren en HPV Control 3 moet alleen voor HPV Oligo Mix 3 een positieve HPV FOZ-waarde ($\geq 1,525$) opleveren.
3. De gemiddelde gDNA FOZ van de drie mengsels moet groter zijn dan of gelijk zijn aan 1,50 ($\geq 1,50$), anders is de controle ongeldig door laag gDNA.
4. Het %CV van de gemiddelde gDNA FOZ van alle drie mengsels moet lager zijn dan 25,0% ($< 25,0\%$).

Tabel 4: Criteria HPV-controle en monster

Controle	Resultaat	HPV FOZ-ratio	Positief FOZ-mengsel	Gemiddeld gDNA FOZ	% CV gDNA FOZ
HPV Control 1	Geldige controle	$\geq 1,525$	Alleen mengsel 1	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
HPV Control 2	Geldige controle	$\geq 1,525$	Alleen mengsel 2	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$
HPV Control 3	Geldige controle	$\geq 1,525$	Alleen mengsel 3	$\geq 1,50$	$< 25,0\%$

Test verifiëren

1. Monsterresultaten zijn geldig als zowel de positieve als negatieve controle correcte resultaten oplevert. Als de No Target Control (negatieve controle) ongeldig is en/of enig resultaat van de positieve controle(s) is/zijn ongeldig, zijn alle monsterresultaten op die plaat ongeldig en moet de test worden herhaald. Raadpleeg het onderdeel Problemen oplossen in de gebruiksaanwijzing en in de gebruikershandleiding voor Invader Call Reporter-software. Raadpleeg het hoofdstuk Problemen oplossen van de gebruikershandleiding voor het Cervista MTA-systeem (onderdeelnummer: MAN-02378-002).
2. Aan alle kwaliteitscontrolevereisten dient te worden voldaan in overeenstemming met de geldende nationale, internationaal en regionale regelgeving.

BEPERKINGEN

1. De Cervista HPV HR-test detecteert DNA van hoog-risico HPV-typen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68. Deze test detecteert geen DNA van laag-risico HPV-typen (zoals 6, 11, 42, 43, 44).
2. De Cervista HPV HR-test laat een kruisreactie zien met twee HPV-typen met een onbekend risico. Een HPV-positief resultaat werd waargenomen bij 5000 kopieën/reactie van HPV-type 67 en 50.000 kopieën/reactie van HPV-type 70.
3. Een negatief resultaat sluit de mogelijkheid van een HPV-infectie niet uit, omdat een zeer laag infectieniveau of een monsterafnamefout een fout-negatief resultaat kan geven.
4. De test is alleen gevalideerd voor gebruik met cervicale cytologiemonsters, afgenomen in PreservCyt-oplossing of SurePath-conserveringsvloeistof.
5. De werking van de Cervista HPV HR-test is vastgesteld met behulp van DNA, geëxtraheerd met de Genfind DNA Extraction Kit.
6. Interferentie werd waargenomen in in PreservCyt-oplossing verzamelde cervixmonsters, verontreinigd met een hoge concentratie (2%) zaaddodende pasta en/of anti-schimmelcrèmes, waarbij DNA werd geïsoleerd met de Genfind DNA Extraction Kit. In dergelijke omstandigheden kunnen fout-negatieve resultaten worden verkregen.
7. Interferentie werd geconstateerd bij in SurePath-conserveringsvloeistof verzamelde cervixmonsters die met zaaddodende pasta en/of fungicidecrèmes waren verontreinigd op 0,5%-niveau, en het glijmiddel ASTROGLIDE® op 0,5%-niveau, wanneer DNA werd geïsoleerd met de Genfind DNA Extraction Kit. Onder deze omstandigheden kunnen ten onrechte negatieve resultaten worden verkregen. De potentiële interferentie van het glijmiddel ASTROGLIDE werd niet getest bij cervixmonsters die in PreservCyt-oplossing werden verzameld.

WERKINGSEIGENSCHAPPEN

Resultaten in klinisch onderzoek

Er is een cross-sectioneel en prospectief klinisch onderzoek in meerdere centra uitgevoerd om de werking te evalueren van de Cervista HPV HR-test voor de detectie van humaan papillomavirus en cervicale intra-epitheliale neoplasie graad 2 of hoger (CIN2+) in vloeibare cytologiemonsters. Resterend ThinPrep-cytologiemonster werd verzameld van 3.540 vrouwen die hun routinematige baarmoederhalskankerscreening ondergingen. Aan dit onderzoek deden 2.026 vrouwen van 30 jaar en ouder mee met normale cytologieresultaten (WNL) en 1.514 vrouwen van 18 jaar en ouder met ASC-US-resultaten. Er werden cytologiemonsters afgenomen op 89 onderzoekslocaties in de Verenigde Staten. DNA werd geëxtraheerd uit het resterende ThinPrep-cervixmonster dat overbleef na voltooiing van de routinematige baarmoederhalskankerscreening. Vervolgens werd het DNA getest met de Cervista HPV HR-test.

De analytische werking van de test werd gemeten tegen de PCR/sequentieresultaten. Voor zowel de ASC-US- als WNL-patiënten werd resterend DNA-monster gebruikt voor PCR-amplificatie en sequentiebevestiging. DNA-monsters werden geamplificeerd met consensusprimers voor het HPV L1-gen. Een deel van het humane bètaglobine-gen werd ook geamplificeerd als interne controle. Gezuiverde amplicons werden gebruikt als templates voor multipele sequencingreacties voor 14 hoog-risico HPV-typen: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 en 68. De sequentiegegevens werden geanalyseerd met behulp van verschillende software voor sequentie-uitlijning.

Een vergelijking tussen de Cervista HPV HR-test en de PCR/sequentiemethode bij zowel ASC-US- als WNL-patiënten resulteerde in een totale overeenkomst van 86,1% tussen de twee methodes (95% BI = 84,9 – 87,3%). Het positieve percentage overeenkomst tussen de twee methodes was 91,8% (89,7 – 93,6%) en het negatieve percentage overeenkomst was 84,2% (95% BI = 82,7 – 85,7).

De klinische werking van de Cervista HPV HR-test werd gemeten tegen de resultaten van colposcopie en histologie. Biopsiemonsters werden afgenomen bij vrouwen met ASC-US-cytologie volgens de zorgnorm van elke deelnemende klinische locatie. Consensus histologieresultaten, geleverd door een centraal beoordelingspanel, vormden de 'gouden norm' voor het bepalen van de aanwezigheid of afwezigheid van de aandoening. In afwezigheid van histologische gegevens stonden het ontbreken van colposcopisch zichtbare cervicale laesies en geen biopsie gelijk aan de afwezigheid van de aandoening.

Er waren 1347 ASC-US-proefpersonen met een bekende ziektestatus (centrale histologie of negatieve colposcopie) en Cervista HPV HR-resultaten. De tabellen 5 en 6 bevatten een vergelijking van de Cervista HPV HR-resultaten met colposcopie/centrale histologie.

Tabel 5: Cervista HPV HR versus colposcopie/consensus histologieresultaten (CIN2+) bij vrouwen met ASC-US-cytologie

Cervista HPV HR	Colposcopie/histologie		
	Positief ^b	Negatief ^c	Totaal
Positief	64	705	769
Negatief^a	5	573	578
Totaal	69	1278	1347

^a Inclusief onbepaalde resultaten

^b CIN2+ histologie

^c Geen CIN of CIN1 bij centrale histologie of colposcopie zonder centrale histologie

Tabel 6: Cervista HPV HR versus colposcopie/consensus histologieresultaten (CIN3+) bij vrouwen met ASC-US-cytologie

Cervista HPV HR	Colposcopie/histologie		
	Positief ^b	Negatief ^c	Totaal
Positief	22	705	727
Negatief ^a	0	573	573
Totaal	22	1278	1300

^a Inclusief onbepaalde resultaten

^b CIN3+ waaronder één adenocarcinoom in situ

^c Geen CIN, CIN1 of CIN2 bij centrale histologie of colposcopie zonder centrale histologie

Bij vrouwen met ASC-US-cytologie was de klinische sensitiviteit van de test voor CIN2+ 92,8% (95% BI = 83,9% - 97,6%) en was de negatieve voorspellende waarde 99,1% (95% BI = 98,0 - 99,7). De klinische sensitiviteit en de negatieve voorspellende waarden van de test voor CIN3 zijn beide 100% (95% BI = 84,6% -100% en 99,4% - 100%).

Er zijn een aantal essentiële variabelen waarvan bekend is dat zij de werkingseigenschappen van een HPV-test in een klinisch onderzoek beïnvloeden. Dit zijn uitsluitend cervixmonsterafnametechnieken, de kwaliteit van de cytologieresultaten, de leeftijd van de geteste populatie, de prevalentie van de aandoening, de vaststellingsmethodes van de aandoening en de methoden voor histologische interpretatie. Gezien het aantal variabelen bij standaard HPV-tests op meerdere klinische locaties, is het opmerkelijk dat veel van de resultaten verkregen uit het Hologic klinische onderzoek gelijk zijn aan de resultaten verkregen onder gecontroleerde onderzoeksomstandigheden in het ASC-US/LSIL Triage Study (ALTS).^{7,4} Een vergelijking van de onderzoeksopzet, prevalentie van de aandoening en klinische werkingseigenschappen van het Hologic-onderzoek en ALTS wordt weergegeven in tabel 7. Het verschil in CIN2+ cijfers tussen de twee onderzoeken kan worden veroorzaakt door populatieverschillen of verschillen in het vaststellen van de aandoening.

Tabel 7: Vergelijking van Hologic klinisch onderzoek en ALTS^{7,4}

criterium	ALTS	Hologic
Aantal deelnamelocaties / staten	4 / 4	89 / 22
Gemiddelde leeftijd van patiënten	29	33
Proefpersonen die colposcopie hebben ondergaan	1149 ^a	1347 ^b
Proefpersonen zonder laesie; geen biopsie uitgevoerd (%)	25%	28%
Proefpersonen zonder pathologische laesie bij biopsie (%)	49%	53%
Proefpersonen met CIN1 (%)	15%	14%
Proefpersonen met CIN2+ (%)	11%	5%
Detectiecijfer voor CIN2+	96%	93%
Detectiecijfer voor CIN3+	96%	100%
Negatieve voorspellende waarde voor CIN2+	98,9%	99,1%
Negatieve voorspellende waarde voor CIN3+	99,5%	100,0%
Aantal doorverwijzingen naar colposcopie	57%	57% ^c
PCR-concordantie	82,7%	86,1%

^a Directe colposcopie-arm van ALTS

^b Aantal patiënten met bekende ziektestatus en Cervista HPV HR-resultaten

^c Doorverwijzingscijfer voor vrouwen van 30 jaar en ouder was 43%

Analytische sensitiviteit

Gekloneerd HPV plasmide-DNA, dat de 14 HPV-typen vertegenwoordigt die gedetecteerd worden door de Cervista HPV HR-test, werd getest om de individuele analytische sensitiviteit voor elk specifiek type vast te stellen. Individuele LoD-waarden (detectielimiet) waarden werden berekend voor de 14 HPV-typen (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) als een functie van een LoB-meting (blanco limiet) en een populatievariantiemeting (SD) van meerdere concentraties van het specifieke HPV-doel (CLSI/NCCLS guideline EP17-A Vol. 24 No. 34). Negen HPV-negatief gekarakteriseerde DNA-monsters, geïsoleerd uit cervixmonsters, werden gebruikt om de LoB-waarde te bepalen (FAM FOZ-ratio = 1,20). Elk HPV plasmide-DNA werd getest bij concentraties van 7500, 5000, 2500 en 1250 kopieën per reactie, elk in een achtergrond van drie genoom-DNA-concentraties geïsoleerd uit een HPV-negatieve cellijn (10 ng, 100 ng en 1 µg per reactie). Alle positieve en negatieve monsters werden getest in achtvoud.

De detectielimiet voor elk HPV-type staat vermeld in tabel 8. Limieten zijn beschreven als de FAM FOZ-ratio en als een kopienummermarge.

Tabel 8: Overzicht analytische sensitiviteit Cervista HPV HR-test

HPV DNA-type	LoD (Kopienummer/reactie)	LoD (FAM FOZ-ratio)	SD
16	1250-2500	1,34	0,08
18	1250-2500	1,34	0,08
31	1250-2500	1,30	0,06
33	2500-5000	1,31	0,07
35	5000-7500	1,34	0,09
39	2500-5000	1,30	0,06
45	1250-2500	1,31	0,06
51	2500-5000	1,35	0,09
52	1250-2500	1,28	0,04
56	1250-2500	1,37	0,10
58	2500-5000	1,35	0,09
59	2500-5000	1,35	0,09
66	2500-5000	1,30	0,06
68	2500-5000	1,30	0,06
Gemiddeld		1,324	0,074

Nauwkeurigheid en specificiteit vergeleken met een PCR / DNA-sequentiemethode

Een onderzoek, bedoeld om te evalueren of de Cervista HPV HR-test hoog-risico HPV-DNA in klinische monsters kon detecteren, werd uitgevoerd. De monsters werden gekarakteriseerd met behulp van een HPV-genotyperingsmethode, specifiek voor onderzoek, waarbij PCR-amplificatie met gedegeneerde primers wordt gebruikt, gevolgd door HPV-typespecifieke sequentie bepaling. De PCR/sequentiemethode werd als enige determinant gebruikt voor de aanwezigheid van HPV-DNA.

Het onderzoek betrof 192 monsters, opgeslagen in PreservCyt-oplossing, waarvan 189 duidelijke sequentieresultaten hadden. Van deze 189 monsters hadden twee monsters een onbepaald resultaat met de Cervista HPV HR-test. Onbepaalde resultaten werden niet opgenomen in de vergelijkende analyse van de Cervista HPV HR-test en PCR/sequentiemethodes.

Het deel van de PCR/sequentie-negatieve resultaten dat positief was met de Cervista HPV HR-test, was 5/187. Daarentegen was het deel van de PCR/sequentie-positieve resultaten dat negatief was met de Cervista HPV HR-test, 11/187 (zie tabel 9).

Bij analyse op deze wijze werd een totale overeenkomst van 91,4% (171/187; 95% BI = 86,5-95,0) tussen de methodes gezien, met een positieve en negatieve overeenkomst van respectievelijk 89,8% en 93,7% (95% BI = 82,5-94,8 en 85,8-97,9).

Tabel 9: Detectie van HPV DNA waarbij de Cervista HPV HR-test met PCR met typespecifieke sequentie bepaling wordt vergeleken

		PCR/sequentiebepaling		
		Negatief	Positief	Totaal
Cervista HPV HR-test	Negatief	74	11	85
	Positief	5	97	102
	Totaal	79	108	187

Reproduceerbaarheid

In dit onderzoek werd de totale reproduceerbaarheid van de Cervista HPV HR-test beoordeeld op drie locaties met behulp van een panel HPV-positieve en -negatieve gekweekte cellen en HPV-positieve en -negatieve cervixmonsters. DNA werd geëxtraheerd uit 2 mL cervixmonster of gekweekte cellen gesuspendeerd in PreservCyt-oplossing. Het DNA werd geëxtraheerd met behulp van de Genfind DNA Extraction Kit. Er werden zestien monsters getest op drie locaties op vijf niet-opvolgende dagen binnen een periode van twee weken. Er werden twee lots Cervista HPV HR-kits en drie lots Genfind DNA Extraction Kits gebruikt voor het onderzoek.

De overeenkomst binnen dag/locatie werd beoordeeld door het percentage overeenkomst tussen runs te berekenen voor de drie mogelijke koppelingen binnen elk van de dagen/locaties. Het gemiddelde percentage overeenkomst en eenzijdig exact 95% betrouwbaarheidsinterval wordt eerst vermeld voor elke locatie (intra-locatie-reproduceerbaarheid) en vervolgens voor alle drie locaties (interlocatie-reproduceerbaarheid).

De overeenkomst tussen dag/binnen locatie werd beoordeeld door het % overeenkomst tussen runs te berekenen voor elke twee runs, uitgevoerd op twee verschillende dagen binnen een locatie voor alle mogelijke koppelingen. Het gemiddelde percentage overeenkomst en eenzijdig exact 95% betrouwbaarheidsinterval wordt eerst vermeld voor elke locatie (intra-locatie, interrun-reproduceerbaarheid) en vervolgens voor alle drie locaties (interlocatie, interrun-reproduceerbaarheid).

De overeenkomst tussen locaties werd beoordeeld door het percentage overeenkomst tussen runs te berekenen voor elke twee runs, uitgevoerd door twee verschillende locaties voor alle mogelijke koppelingen [n=3 (locaties 1 en 2, locaties 1 en 3, locaties 2 en 3)]. Het gemiddelde percentage overeenkomst en eenzijdig 95% betrouwbaarheidsinterval worden weergegeven in tabel 10 en 11.

Tabel 10: Percentage overeenkomst HPV HR moleculaire assay tussen dagen (binnen locatie)

Locatie	Aantal vergelijkingen	Aantal overeenkomsten	Percentage overeenkomst	1-zijdige 95% betrouwbaarheid ondergrens
Locatie 1	200	200	100,0%	96,3%
Locatie 2	200	193	96,5%	90,8%
Locatie 3	200	200	100,0%	96,3%
In alle 3 locaties	600	593	98,8%	96,9%

Tabel 11: Percentage overeenkomst HPV HR moleculaire assay tussen locaties

Locaties	Aantal vergelijkingen	Aantal overeenkomsten	Percentage overeenkomst	1-zijdige 95% betrouwbaarheid Ondergrens
Locatie 1 vs. locatie 2	500	490	98,0%	96,6%
Locatie 1 vs. locatie 3	500	500	100,0%	99,4%
Locatie 2 vs. locatie 3	500	490	98,0%	96,6%
Koppelingen alle locaties	1500	1480	98,7%	97,9%

Storende stoffen

Er werden vier cervixmonsters (één HPV-negatief, drie HPV-positief) en drie cellijnmonsters (één HPV-negatief, twee HPV-positief) getest met toegevoegde stoffen die mogelijk in het cervixmonster aanwezig zouden kunnen zijn. De aan de monsters toegevoegde stoffen waren PreservCyt-oplossing, twee soorten schedespoeling, zaaddodende pasta, twee soorten anti-schimmelcrème en negatieve klinische monsters die zichtbaar bloed en slijm bevatten. De PreservCyt-oplossing, spoeling, zaaddodende pasta en anti-schimmelcrèmes werden in twee concentraties toegevoegd: 0,5% en 2%. Deze concentraties werden gekozen om extreme situaties na te bootsen die zich mogelijk zouden kunnen voordoen tijdens monsterafname als de cervix niet werd gereinigd voorafgaand aan de monsterafname. DNA werd uit zuivere en onzuivere monsters geïsoleerd met behulp van de Genfind DNA Extraction Kit en werd getest met de Cervista HPV HR-test om de mate van storing, veroorzaakt door de geïntroduceerde stoffen, te beoordelen.

Zaaddodende pasta en de anti-schimmelcrèmes met clotrimazol of miconazol in een monsterconcentratie van 2% gaven onbepaalde en fout-negatieve resultaten. Tijdens de DNA-extractie stoorde de zaaddodende pasta de scheiding met magnetische beads in de 10 mM Tris-buffer, resulterend in lage DNA-opbrengst en ontoereikend DNA-monster voor de test. Deze storing was zichtbaar waarneembaar.

De concentraties van de hierboven genoemde stoffen, nodig om de test te laten mislukken, zijn ongebruikelijk hoog en zouden niet in de echte klinische monsters aanwezig moeten zijn, mits de arts de juiste procedure heeft gevolgd voor wat betreft het reinigen van de cervix alvorens het celmonster voor het cervixuitstrijkje af te nemen.

De Cervista HPV HR-test werd ook getest met componenten die mogelijk onbedoeld zouden kunnen worden overgebracht tijdens de monsterextractie met behulp van de Genfind DNA Extraction Kit. DNA met drie concentraties (0%, 5% en 10%) 70% ethanol of Genfind magnetische beads werd getest om de mate van storing, veroorzaakt door de geïntroduceerde stoffen, te beoordelen. Storing werd waargenomen wanneer 10% van het DNA-monstervolume uit 70% ethanol of de magnetische beads bestond.

Kruisreactiviteit

Een panel met bacteriën, schimmels en virussen die vaak worden aangetroffen in het anogenitale traject van de vrouw, alsook diverse gekloneerde humane papillomavirustypen met laag of onbepaald risico werden getest met de Cervista HPV HR-test om eventuele kruisreactiviteit te beoordelen (zie tabellen 12-14).

Tabel 12:

De onderstaande organismen werden toegevoegd aan PreservCyt-oplossing in concentraties van circa 1×10^5 cfu/mL en 1×10^7 cfu/mL. DNA van deze organismen en een negatieve cellijn (Jurkat, 1×10^5 cellen/mL) werd geëxtraheerd met behulp van de Genfind DNA Extraction Kit. Alle monsters hadden een negatief resultaat met de Cervista HPV HR-test.

<i>Candida albicans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphthericum</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>

Tabel 13

Gezuiverd DNA, verkregen van de hieronder genoemde organismen, werd getest in een concentratie van 1×10^5 kopieën/reactie en 1×10^7 kopieën/reactie met behulp van de Cervista HPV HR-test. Alle monsters hadden een negatief resultaat.

herpes-simplexvirus, type 1 (HSV-1)	<i>Chlamydia trachomatis</i>
herpes-simplexvirus, type 2 (HSV-2)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Humaan immunodeficiëntievirus type 1 (hiv-1, pol- en env-regio's)	<i>Neisseria meningitidis</i>
	<i>Mycoplasma hominis</i>

Tabel 14

Gezuiverd, gekloneerd DNA of PCR-ampliconmonsters voor de volgende HPV-typen werden getest in een concentratie van 1×10^5 kopieën/reactie en 1×10^7 kopieën/reactie, tenzij anders vermeld, met behulp van de Cervista HPV HR-test. Alle monsters hadden een negatief resultaat.

Humaan papillomavirus type 1a	Humaan papillomavirus type 44
Humaan papillomavirus type 6	Humaan papillomavirus type 53
Humaan papillomavirus type 11	Humaan papillomavirus type 67*
Humaan papillomavirus type 42	Humaan papillomavirus type 70*
Humaan papillomavirus type 43	Humaan interne-controle-gen

* Humaan papillomavirus typen 67 en 70 gaven positieve resultaten met de Cervista HPV HR-test bij 1×10^5 en 1×10^7 kopieën/reactie. Na verdere titratie van deze monsters werden negatieve resultaten verkregen met de Cervista HPV HR-test bij respectievelijk 1×10^3 kopieën/reactie en 1×10^4 kopieën/reactie.

Daarnaast werd ook DNA dat geëxtraheerd was uit een panel met twaalf cervicale monsters, opgeslagen in PreservCyt-oplossing, waarbij eerder met PCR/sequentiebepaling was aangetoond dat deze monsters HPV-typen met laag of onbepaald risico (HPV-typen 6, 42, 43, 44, 53 of 70) bevatte, getest en dit gaf negatieve resultaten met de Cervista HPV HR-test.

NAUWKEURIGHEID

Herhaalbaarheid en intra-aboratoriumnauwkeurigheid van de Cervista HPV HR-test werd aangetoond in een onderzoek van 21 dagen met drie verschillende gebruikers, waarbij iedere gebruiker twee runs per dag uitvoerde op individueel toegewezen apparatuur. Elke run bestond uit vier platen. Er werden verschillende plaatlay-outs gebruikt voor de runs binnen één dag.

Elke run bestond uit genoom-DNA-monsters, geïsoleerd uit twee HPV-positieve cellijnen (SiHa - Type 16 en HeLa - type 18), een HPV-negatieve cellijn (Jurkat) en samengestelde monsters met HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV35, HPV39, HPV45, HPV51, HPV52, HPV56, HPV58, HPV59, HPV66 of HPV68 plasmide-DNA en Jurkat-DNA. Elk monster werd in tweevoud in drie concentraties getest.

Met 2500 kopieën/reactie gaven de plasmide-DNA-monsters 57,4% (675/1176) positieve resultaten. Met 5000 kopieën/reactie gaven de plasmide-DNA-monsters 97,2% (1143/1176) positieve resultaten. Met 10.000 kopieën/reactie gaven de plasmide-DNA-monsters 100,0% (1176/1176) positieve resultaten (zie tabel 15).

Tabel 15: Overzicht van de positieve en negatieve waarden voor elke geteste monsterconditie.

Doel		N	HPV-positief n (%)	HPV-negatief n (%)
HPV 16	2.500	84	82 (98%)	2 (2%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 18	2.500	84	64 (76%)	20 (24%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 31	2.500	84	58 (69%)	26 (31%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 33	2.500	84	13 (15%)	71 (84%)
	5.000	84	81 (96%)	3 (4%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 35	2.500	84	1 (1%)	83 (99%)
	5.000	84	60 (71%)	24 (29%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 39	2.500	84	52 (62%)	32 (38%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 45	2.500	84	84 (100%)	0 (0%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 51	2.500	84	77 (92%)	7 (8%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 52	2.500	84	21 (25%)	63 (75%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 56	2.500	84	64 (76%)	20 (24%)
	5.000	84	83 (99%)	1 (1%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 58	2.500	84	60 (71%)	24 (29%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 59	2.500	84	16 (19%)	68 (81%)
	5.000	84	79 (94%)	5 (6%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 66	2.500	84	40 (48%)	44 (52%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)
HPV 68	2.500	84	43 (51%)	41 (49%)
	5.000	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000	84	84 (100%)	0 (0%)

	Doel	N	HPV-positief n (%)	HPV-negatief n (%)
Cellen/ml geëxtraheerd	2500 SiHa / 97.500 Jurkat	84	0 (0%)	84 (100%)
	SiHa/Jurkat			
	5000 SiHa / 95.000 Jurkat	84	15 (18%)	69 (82%)
	20.000 SiHa / 80.000 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	HeLa/Jurkat			
	1.250 HeLa / 98.750 Jurkat	84	65 (77%)	19 (23%)
	2.500 HeLa / 97.500 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	10.000 HeLa / 90.000 Jurkat	84	84 (100%)	0 (0%)
	Jurkat			
	10.000	84	2 (2%)	82 (98%)
	20.000	84	0 (0%)	84 (100%)
	100.000	84	0 (0%)	84 (100%)

Werking van de Cervista HPV HR-test

Werking van de Cervista HPV HR-test bij monsters afgenomen in SurePath-conserveringsvloeistof vergeleken met monsters afgenomen in PreservCyt-oplossing:

In totaal namen 418 testpersonen deel aan een co-collectieonderzoek met van elke testpersoon zowel in SurePath-conserveringsvloeistof als in PreservCyt-oplossing afgenomen cervixmonsters. Elk monsterpaar werd getest met de Cervista HPV HR-test. Er werd een totale overeenstemming van 92% gevonden tussen de in SurePath-conserveringsvloeistof en de in PreservCyt-oplossing afgenomen monsters.

Tabel 16: Samenvatting van de Cervista HPV HR-resultaten van gepaard in SurePath-conserveringsvloeistof en in PreservCyt-oplossing afgenomen cervixmonsters

	Monsters in SurePath	Monsters in PreservCyt
Aantal	418	418
Procent positief	29,4%	29,2%
Procent negatief	69,9%	70,6%
Onbepaald	0,7%	0,2%

PROBLEMEN OPLOSSEN: HANDMATIGE TESTPROCEDURE VOOR CERVISTA HPV HR

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
Onvoldoende volume aangemaakt voor de reactiemengsels	Aantal monsters ingevoerd in het tabblad 'Assay Selection' [Assayselectie] in de software is lager dan de monsters die aan de plaat zijn toegevoegd.	Bereken handmatig de benodigde hoeveelheid reactiemengsel om de volledige plaat te kunnen uitvoeren Maak nieuwe softwareafdrukken met het juiste aantal monsters
	Overmatige hoeveelheid reactiemengsel toegevoegd aan de 96-wells microplaat.	Controleer of het juiste volume reactiemengsel aan elke well werd toegevoegd. Controleer of de kalibratie-informatie op de apparatuur up-to-date is.
No Target Control geeft de volgende resultaten: <ul style="list-style-type: none"> • Increase gain for scan 1 [Toegenomen versterking voor scan 1] • Increase gain for scan 2 [Toegenomen versterking voor scan 2] • Increase gain for both scans [Toegenomen versterking voor beide scans] 	Versterkingsinstellingen van de fluorescentie-microplaatlezer zijn te laag, waardoor de raw fluorescente signalen onder de minimumwaarde vallen	Verhoog de versterkingsinstellingen van de fluorometer voor de specifieke scan(s) zodat de No Target Control een minimumsignaal produceert van 600 RFU en lees dan de plaat opnieuw af.
Fouten opgetreden tijdens gegevensimport: Check FAM & Red gain settings and read the whole plate again. [Controleer versterkingsinstellingen van FAM en Red en lees de volledige plaat opnieuw af.] (Partial plate reads are not allowed.) [Gedeeltelijk aflezen van platen is niet toegestaan.] Check FAM gain setting and read the whole plate again. [Controleer versterkingsinstellingen van FAM en lees de volledige plaat opnieuw af.] (Partial plate reads are not allowed.) [Gedeeltelijk aflezen van platen is niet toegestaan.] Check Red gain setting and read the whole plate again. [Controleer versterkingsinstellingen van Red en lees de volledige plaat opnieuw af.] (Partial plate reads are not allowed.) [Gedeeltelijk aflezen van platen is niet toegestaan.]	Fluorometerproblemen	Raadpleeg de handleiding voor het oplossen van problemen in de gebruikershandleiding van de Invader Call Reporter-software voor problemen met de fluorometer die deze fout kunnen veroorzaken.
	De incubatieperiode was langer dan de aanbevolen tijdsduur	Controleer of de incubatie is uitgevoerd met de aangegeven tijdsduur en bij de aangegeven temperatuur.

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
No Target Control geeft de volgende resultaten: High %CV (HPV NTC) High %CV (gDNA NTC)	Onvoldoende of inconsistent mengen van reagentia	<ul style="list-style-type: none"> • Zorg dat alle monsters, reagentia en reactiemengsels grondig worden gemengd. • Plaats bij het toevoegen van reactiemengsel aan elke well de pipettip op de bodem van de well (onder de minerale olie) en pipetteer langzaam 3-4 keer op en neer. • Controleer of na de toevoegingen de pipettip geheel leeg is. • Controleer of het juiste reagens aan elke well is toegevoegd. • Controleer of het juiste reagensvolume aan elke well is toegevoegd. • Controleer of de kalibratie-informatie op de apparatuur up-to-date is. • Inspecteer de plaat visueel op consistente volumes in alle wells.
	Onjuiste bereiding van de reactiemengsels	
	Inconsistente toevoeging van No Target Control of reactiemengsel aan de microplaat	
	Vermoede verontreiniging tijdens monstertoevoeging of reactiemengselbereiding	<ul style="list-style-type: none"> • Gebruik nucleasevrije aerosolbarrière-tips en steriele buisjes voor de bereiding van de reactiemengsels. • Draag handschoenen tijdens het klaarzetten van de test. • Zorg ervoor dat de pipettips alleen de af te geven oplossing aanraken. • Raak de pipettips niet met de handen aan. • Reinig de werkoppervlakken in het laboratorium met daarvoor bestemde materialen.
	Verdamping monster	Controleer of elke well minerale olie bevat.
	Luchtbellen in de wells van de reactieplaat	Centrifugeer de platen, indien mogelijk, vóór fluorescentiescanning.
	Bereide reactiemengsels werden niet gebruikt binnen de aangegeven periode	Gebruik de reactiemengsels binnen 30 minuten na bereiding.

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
Controle(s) geven het resultaat Invalid Control [Ongeldige controle]	Onvoldoende of inconsistent mengen van controles	<ul style="list-style-type: none"> • Zorg ervoor dat alle controles en reagentia grondig en consistent zijn gemengd. • Plaats bij het toevoegen van reactiemengsel aan elke well de pipettip op de bodem van de well (onder de minerale olie) en pipetteer langzaam 3-4 keer op en neer. • Controleer of na de toevoegingen de pipettip geheel leeg is. • Controleer of de juiste controle aan elke well is toegevoegd. • Controleer of het juiste volume controle aan elke well is toegevoegd. • Controleer of de kalibratie-informatie op de apparatuur up-to-date is. • Inspecteer de plaat visueel op consistente volumes in alle wells.
	Inconsistente toevoeging van reactiemengsel	
	Onvoldoende of inconsistent toevoegen van controles	
	De juiste controle(s) werden niet aan de plaat toegevoegd of werd niet aan de juiste plaatpositie toegevoegd	Controleer of de juiste controles aan de juiste plaatposities werden toegevoegd.
	De incubatieperiode was korter of langer dan de aanbevolen tijdsduur.	Controleer of de incubatie is uitgevoerd met de aangegeven tijdsduur en bij de aangegeven temperatuur.
	Vermoede verontreiniging tijdens het toevoegen van het monster	Gebruik nucleasevrije aerosolbarrière-tips en steriele buisjes tijdens het klaarzetten.
		Draag handschoenen tijdens het klaarzetten van de test.
		Zorg ervoor dat de pipettips alleen de af te geven oplossing aanraken.
		Raak de pipettips niet met de handen aan.
	Verdamping monster	Reinig de werkoppervlakken in het laboratorium met daarvoor bestemde materialen.
	Verdamping monster	Controleer of elke well minerale olie bevat.
Onjuiste oriëntatie van de plaat	Oriënteer de plaat tijdens het scannen zodanig dat well A-1 linksboven zit.	
Luchtbellen in de wells van de reactieplaat	Centrifugeer de platen, indien mogelijk, vóór fluorescentiescanning.	
Bereide reactiemengsels werden niet gebruikt binnen de aangegeven periode.	Gebruik de reactiemengsels binnen 30 minuten na bereiding.	

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing	
Monster geeft als resultaat: 'IND: High %CV'	Onvoldoende of inconsistent mengen van monsters	<ul style="list-style-type: none"> • Zorg dat alle monsters en reagentia grondig worden gemengd. • Plaats bij het toevoegen van reactiemengsel aan elke well de pipettip op de bodem van de well (onder de minerale olie) en pipetteer langzaam 3-4 keer op en neer. • Controleer of na de toevoegingen de pipettip geheel leeg is. • Controleer of het juiste monster aan elke well is toegevoegd. • Controleer of het juiste volume monster aan elke well is toegevoegd. • Controleer of de kalibratie-informatie op de apparatuur up-to-date is. • Inspecteer de plaat visueel op consistente volumes in alle wells. 	
	Inconsistente toevoeging van reactiemengsel		
	Inconsistente toevoeging van monster		
	Vermoede verontreiniging tijdens het toevoegen van het monster		Gebruik nucleasevrije aerosolbarrière-tips en steriele buisjes tijdens het klaarzetten.
			Draag handschoenen tijdens het klaarzetten van de test.
			Zorg ervoor dat de pipettips alleen de af te geven oplossing aanraken.
			Raak de pipettips niet met de handen aan.
			Reinig de werkoppervlakken in het laboratorium met daarvoor bestemde materialen.
	Verdamping monster	Controleer of elke well minerale olie bevat.	
	Luchtbellen in de wells van de reactieplaat	Centrifugeer de platen, indien mogelijk, vóór fluorescentiescanning.	
Bereide reactiemengsels werden niet gebruikt binnen de aangegeven periode.	Gebruik de reactiemengsels binnen 30 minuten na bereiding.		
Monster geeft als resultaat: 'IND: Low gDNA'	Onvoldoende aantal cellen in monster	<ul style="list-style-type: none"> • Meng het monster en herhaal de DNA-extractie. • Controleer of het juiste volume monster aan elke well is toegevoegd. • Controleer of de juiste procedure voor DNA-extractie is gevolgd. 	
	Vermoedelijke fout tijdens DNA-extractie		
	Onvoldoende hoeveelheid DNA gebruikt in de assay		
	Inhibitie DNA-monster		Herhaal DNA-extractie uit het monster.
			Raadpleeg de gebruiksaanwijzing, paragraaf Werkingseigenschappen (Storende stoffen).
De DNA-monsters zijn mogelijk niet volledig gedenateerd	Controleer of het monster bij de juiste temperatuur en voldoende lang werd gedenateerd.		

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
Monster geeft als resultaat: 'IND: Low HPV FOZ'	Vermoedelijke fout tijdens DNA-extractie	<ul style="list-style-type: none"> • Herhaal DNA-extractie uit het monster. • Controleer of de juiste procedure voor DNA-extractie is gevolgd. • Raadpleeg de gebruiksaanwijzing, paragraaf Werkingseigenschappen (Storende stoffen).
	Inhibitie DNA-monster	
Onvoldoende volume monster-DNA	Onvoldoende elutievolume tijdens DNA-extractie	Herhaal DNA-extractie uit het monster.
		Controleer of de juiste procedure voor DNA-extractie is gevolgd.
Hoog aantal DNA-monsters met positieve FAM FOZ-waarden in alle drie reactiemengsels	Vermoedelijke fout tijdens DNA-extractie	<ul style="list-style-type: none"> • Herhaal DNA-extractie uit het monster. • Controleer of de juiste procedure voor DNA-extractie is gevolgd.
	Vermoedelijke verontreiniging reagens DNA-extractie	

PROBLEMEN MET HET CERVISTA MTA-SYSTEEM OPLOSSEN

Raadpleeg het hoofdstuk Problemen oplossen van de gebruikershandleiding (onderdeelnummer: MAN-02378-002) van het Cervista MTA-systeem.

LITERATUUR

1. Website National Cancer Institute: www.cancer.gov (2008).
2. Meijer CJ, Snijders PJ, and Castle PE. 2006. Clinical utility of HPV genotyping. *Gynecol Oncol* 103: 12-17.
3. Wright TC, Jr., Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, and Solomon D. 2007. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 197(4): 346-55.
4. Sherman ME, Schiffman M, and Cox TJ. 2002. Effects of age and human papilloma viral load on colposcopy triage: data from the randomized Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS). *Jour Nat Can Inst* 94(2): 102-107.
5. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC, Colgan TJ, Styer PE, and Mody DR. 2004. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the college of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Path Lab Med* 128: 1224-1229.
6. Wright TC, Jr., Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-2129.
7. Solomon D, Schiffman M, and Tarone R. 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *Jour Nat Can Inst*; 93(4): 293-299.
8. Mayrand MH, E Duarte-Franco, I Rodrigues, SD Walter, J Hanley. 2007. A Ferenczy, S Ratnam, F Coutlée, EL Franco. Human Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Tests for Cervical Cancer. *N Engl J Med* 357(16): 1579-1588.
9. Wheeler CM, WC Hunt, M Schiffman, PE Castle. 2006. Human papillomavirus genotypes and the cumulative 2-Year risk of cervical cancer. *J Infect Dis* 194: 1291-1299.
10. Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki A-B, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C. American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Can Jour Clin* 2002; 53: 342-362.
11. Wright TC Jr, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S, Hatch K, Noller KL, Roach N, Runowicz C, Saslow D. 2004. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 103: 304-309.
12. Hall JG, Eis PS, Law SM, Reynaldo LP, Prudent JR, Marshall DJ, Allawi HT, Mast AL, Dahlberg JE, Kwiatkowski RW, de Arruda M, Neri BP, and Lyamichev VI. 2000. Sensitive detection of DNA polymorphisms by the serial invasive signal amplification reaction. *PNAS* 97(15): 8272-8277.

Contactinformatie:



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 VS.

Klantenservice: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Technische ondersteuning: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Bezoek www.hologic.com voor meer contactgegevens.

**Geautoriseerde vertegenwoordiger voor de Europese Gemeenschap:**

Hologic Ltd.
 Heron House Oaks Business Park
 Crewe Road
 Wythenshawe, Manchester
 M23 9HZ, Verenigd Koninkrijk
 Tel: +44 (0)161 946 2206
 Fax: +44 (0)161 602 0995
 Email: AuthorisedRepresentativeEurope@hologic.com

KENNISGEVING VOOR ONTVANGER INZAKE BEPERKTE LICENTIE

De ontvangst van producten van Hologic of diens bevoegde distributeur houdt een beperkte, niet-exclusieve, niet-overdraagbare licentie in met betrekking tot bepaalde intellectuele-eigendomsrechten waarvan Hologic de houder is. Deze licentie betreft uitsluitend het gebruik van het product volgens de daartoe beoogde methoden. Deze beperkte licentie houdt geen vergunning in om het product te gebruiken voor nieuwe productontwikkelingen of research, productfabricage, reverse engineering, verbeteringen van deze producttechnologie of andere commerciële doeleinden. Het is de koper niet toegestaan dit product aan derden over te dragen, ongeacht met welk oogmerk, zonder dat Hologic daartoe uitdrukkelijk en schriftelijk toestemming heeft gegeven. Er zijn of worden geen andere licenties verleend, expliciet, impliciet of door uitsluiting, behoudens indien in deze alinea anders is beschreven.

Voor informatie over de beschikbaarheid van aanvullende licenties om de gepatenteerde methodologieën ten uitvoer te brengen, neemt u contact op met:

Legal Department, Hologic, Inc., 250 Campus Drive, Marlborough, MA, 01752, (508) 263-2900.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse (VS) octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

BEPERKTE PRODUCTGARANTIE

GARANTIES. Aan de primaire koper wordt garantie verleend met dien verstande dat de apparatuur, de accessoires en de software in wezen functioneren conform de gepubliceerde productspecificaties, gedurende één (1) jaar vanaf de datum van installatie (indien van toepassing) of vanaf de datum van levering (de vroegste van deze twee datums is van toepassing). Voor de after-sale-opties en accessoires geldt een garantieperiode van zes (6) maanden, en voor de röntgenbuizen is een 'straight-line' garantie met vooraf bepaalde looptijd van toepassing, zoals in de bijbehorende productspecificaties is beschreven ('Garantieperiode'). Voor vervangen onderdelen geldt een garantieperiode van de resterende garantieduur of van negentig (90) dagen vanaf de datum van levering (de langste van deze twee perioden is van toepassing). Van verbruiksartikelen wordt gegarandeerd dat zij met de gepubliceerde specificaties overeenstemmen, gedurende een periode die eindigt op de vervaldatum die op de verpakking is vermeld. Ten aanzien van dienstverlening wordt gegarandeerd dat deze zal voldoen aan de geldende ambachtelijke normen. Hologic garandeert niet dat het gebruik van producten vrij zal zijn van onderbrekingen of storingen, en evenmin dat de producten functioneren in combinatie met producten van andere, niet door Hologic erkende fabrikanten. DE GARANTIEAANSPRAKELIJKHEID VAN HOLOGIC BEPERKT ZICH BIJ ALLE GARANTIEAANSPRAKEN UITDRUKKELIJK TOT REPARATIE OF VERVANGING VAN PRODUCTEN (NAAR KEUZE VAN HOLOGIC EN CONFORM DE AANVANKELIJKE LEVERINGSVORM) OF HERSTEL VAN VERLENDE DIENSTEN, OF, NAAR KEUZE VAN HOLOGIC, RESTITUTIE OF CREDITERING VAN EEN BEDRAG DAT GELIJK IS AAN DE DOOR HOLOGIC GEHANTEERDE PRIJS OF DIENSTENVERGOEDING. DE VOORNOEMDE GARANTIEVOORWAARDEN DIENEN TER VERVANGING EN UITSLUITING VAN ALLE ANDERE GARANTIES DIE IN DIT DOCUMENT NIET UITDRUKKELIJK ZIJN VERMELD, EXPLICIET OF IMPLICIET, KRACHTENS WETSUITOEFENING OF ANDERSZINS, MET INBEGRIJ VAN (MAAR NIET BEPERKT TOT) ENIGERLEI IMPLICIETE GARANTIES VAN VERKOOPBAARHEID OF GESCHIKTHEID VOOR EEN BEPAALD DOEL. DEZE BEPERKTE GARANTIE WORDT UITSLUITEND VERLEEND AAN DE PRIMAIRE KOPER EN IS NIET VAN TOEPASSING VOOR DERDEN, MET INBEGRIJ VAN (MAAR NIET BEPERKT TOT) AFNEMERS VAN DE KOPER. DOOR DEZULKEN KAN DAN OOK GEEN AANSPRAAK OP DE GARANTIE WORDEN GEMAAKT. BIJ OVERDRACHT VAN HET PRODUCT DOOR DE KOPER AAN EEN PARTIJ DIE VOOR MINDER DAN VIJFTIG (50) PROCENT MEDE-EIGENAAR VAN HET PRODUCT IS, KOMT DEZE GARANTIE TE VERVALLEN. IN SOMMIGE RECHTSGBIEDEN IS UITSLUITING VAN IMPLICIETE GARANTIES NIET TOEGESTAAN. HET IS DUS MOGELIJK DAT DE HIERBOVEN BESCHREVEN UITSLUITINGEN VOOR U NIET VAN TOEPASSING ZIJN. OOK KUNT U MOGELIJK AANSPRAAK MAKEN OP ANDERE RECHTEN, DIE VAN RECHTSGBIED TOT RECHTSGBIED KUNNEN VERSCHILLEN. Deze garantievoorwaarden zijn in de volgende gevallen niet van toepassing: (a) indien artikelen zijn gerepareerd, verplaatst of veranderd door anderen dan door Hologic bevoegd verklaarde onderhoudsmedewerkers; (b) indien artikelen zijn blootgesteld aan materieel (inclusief thermisch of elektrisch) misbruik, overmatige materiaalspanning of onoordeelkundig gebruik; (c) indien artikelen zijn bewaard, onderhouden of bediend op een wijze die niet overeenkomt met de van toepassing zijnde specificaties of instructies van Hologic; (d) indien artikelen blijken te zijn onderworpen aan een niet door Hologic gestelde garantie of op proef dan wel op 'as-is-basis' zijn geleverd.

GARANTIEAANSPRAKEN EN VERHAAL. In geval van aanspraak op garantie vervangt Hologic de aan garantie onderhevige apparaatdelen, componenten of verbruiksartikelen met nieuwe of gerepareerde onderdelen. Tevens spant Hologic zich naar redelijkheid in om softwarestoringen of -bugs onverwijld te verhelpen, of een noodoplossing te verschaffen indien zulke storingen het behoorlijk functioneren conform de specificaties verhinderen. Ook kan Hologic ervoor kiezen de koper een bedrag te vergoeden of te crediteren dat gelijk is aan de aankoopprijs van de defecte apparatuur, component, software, verbruiksartikelen of diensten. Vervangen artikelen/onderdelen worden eigendom van Hologic. Alle aanspraakprocedures moeten worden geïnitieerd door contact met Hologic binnen de van toepassing zijnde garantieperiode en binnen dertig (30) dagen nadat de beschadiging of tekortkoming is ontdekt. Aan Hologic moet naar redelijkheid toegang en gelegenheid worden verschaft voor het inspecteren van alle betreffende materialen. Indien Hologic en de koper er niet in slagen aanspraken te vereffenen waarbij de koper Hologic niet binnen één (1) jaar na het ontstaan van de aanspraak op de hoogte heeft gesteld, heeft de koper daarna geen recht op het instellen van gerechtelijke acties. Onder deze rechtsmiddelen worden begrepen de volledige aansprakelijkheid van Hologic en het exclusieve verhaal van de koper ten aanzien van garantieschending. Deze rechtsmiddelen nemen de plaats in van andere rechtsmiddelen van wettelijke of regelgevende aard.

AANSPRAKELIJKHEIDSBEPERKING. HOLOGIC AANVAARDT GEEN AANSPRAKELIJKHEID VOOR SPECIFIEKE, INCIDENTELE, INDIRECTE, PUNITIEVE OF MORELE VERLIEZEN, BESCHADIGINGEN OF KOSTEN (INCLUSIEF, MAAR NIET BEPERKT TOT, HET VERLIES VAN WINSTEN, GEGEVENS OF GEBRUIKSGENOT), DIRECT OF INDIRECT VOORTVLOEIEND UIT DE VERKOOP, HET HANTEREN, ONDERHOUDEN OF GEBRUIKEN VAN BESTELDE OF GELEVERDE PRODUCTEN, OF VOORTVLOEIEND UIT ANDERE DAARAAN GERELATEERDE OORZAKEN, TENZIJ DOOR PARTIJEN UITDRUKKELIJK EN SCHRIFTELIJK ANDERS IS OVEREENGEKOMEN. BEHOUDENS BIJ PERSOONLIJK LETSEL OF OVERLIJDEN ALS GEVOLG VAN NALATIGHEID OF OPZETTELIJK ONJUIST HANDELEN OF VERZUIM TE HANDELEN DOOR HOLOGIC, ZAL HOLOGIC ONDER GEEN BEDING AANSPRAKELIJK ZIJN VOOR BEDRAGEN DIE HOGER ZIJN DAN DE PRIJS OF VERGOEDING DIE DOOR HOLOGIC IS ONTVANGEN, KRACHTENS ENIG WETSBEGINSEL OF REDEN, ONGEACHT OF DE AANSPRAKEN ZICH BASEREN OP GARANTIE, CONTRACT, BENADELING, NALATIGHEID OF ANDERE RECHTSBEGINSELEN, OOK INDIEN BETROKKENE OVER DE KANS DAAROP IS INGELICHT.

Hologic, Cervista, Cleavase, Invader, Invader Call Reporter, PreservCyt en ThinPrep zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of haar dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Alle andere handelsmerken die mogelijk op deze bijsluiters vernoemd zijn, zijn de eigendom van hun respectieve eigenaars.

Bepaalde componenten van nucleïnezuuranalyse, zoals specifieke methodes en samenstellingen voor het manipuleren of visualiseren van nucleïnezuren voor analyse, kunnen onder één of meerdere octrooien van andere partijen vallen. Ook kunnen nucleïnezuren met specifieke nucleotidesequenties onder een octrooi vallen. Voor het maken, gebruiken of verkopen van dergelijke componenten of nucleïnezuren kunnen één of meerdere licenties nodig zijn. Niets in dit document mag worden beschouwd als een autorisatie of impliciete licentie om componenten of nucleïnezuren, aldus vallend onder een dergelijk octrooi, te maken, gebruiken of verkopen.

©2011-2016 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.
Onderdeelnummer 15-3053-1501, herziening 106