

INFORM HPV III Family 16 Probe (B)

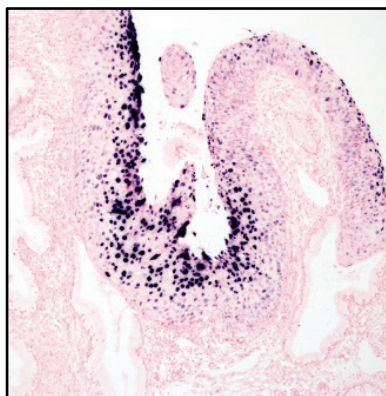
REF

800-4295

05278856001

IVD

50



Afbeelding 1. Cervicaal weefsel gekleurd met de INFORM HPV III Family 16 Probe en ISH MIEW Blue Plus Detection Kit. Vergroting 10x.

BEOOGD GEBRUIK

De INFORM HPV III Family 16 Probe (B) van Ventana Medical Systems (Ventana) is bedoeld voor toepassing in combinatie met de ISH MIEW Blue Plus Detection Kit en andere bijbehorende reagentia voor de kleuring van weefselcoupes die zijn gefixeerd met neutraal gebufferde formaline en ingebed in paraffine, op de VENTANA BenchMark IHC/ISH-instrumenten.

Lichtmicroscopie wordt gebruikt om de kleuringsreactie waar te nemen. Positieve resultaten dragen bij aan de classificatie van normale en abnormale monsters

en dienen als toegevoegd hulpmiddel bij conventionele histopathologische onderzoeken. De klinische beoordeling van een kleuring of het uitblijven daarvan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en beoordeling van juiste controles. De beoordeling moet worden uitgevoerd door een daartoe bevoegd patholoog in samenhang met de klinische voorgeschiedenis van de patiënt en andere diagnostische tests. Dit product is bestemd voor *in vitro* diagnostiek (IVD).

SAMENVATTING EN UITLEG

De INFORM HPV III Family 16 Probe (B) bevat een cocktail van gelabelde genoomsondes van humaan papillomavirus (HPV).¹ De beoogde targets zijn de normale HPV-genotypen waarvan is aangetoond dat zij zijn geassocieerd met baarmoederhalskanker. De probe-cocktail vertoont positieve hybridisatie met de volgende genotypen: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56, 58 en 66.

Baarmoederhalskanker is de tweede meest voorkomende kanker bij vrouwen wereldwijd, met naar schatting 529.000 nieuwe gevallen en 275.000 overlijdens per jaar wereldwijd.^{2,3} HPV is een dubbelstrengs-DNA-virus met meer dan 200 verschillende genotypen die ongeveer 7.900 basisparen bevatten.⁴ De levenscyclus van HPV is direct gebonden aan de differentiatie van keratinocyten. Een belangrijk onderdeel van de levenscyclus van het virus is de differentiatie-afhankelijke escalatie van de virusreproductie. De toename in reproductieactiviteit leidt tot amplificatie van het HPV-genoom van ongeveer 50 kopieën per cel in basale keratinocyten tijdens het subklinische infectiestadium, tot duizenden kopieën van het virusgenoom per cel in suprabasale keratinocyten tijdens het klinische infectiestadium.⁵ Het is aangetoond dat infectie van het cervixepitheel door HPV een initiërende factor is in het oncogene proces dat leidt tot de ontwikkeling van baarmoederhalskanker.⁶

Het risico van progressie van de ziekte van dysplasie tot baarmoederhalskanker is afhankelijk van het type HPV. Daarom zijn de HPV-typen in verschillende oncogene risicogroepen geclassificeerd. Deze categorieën weerspiegelen de mate waarin een patiënt risico loopt kanker te ontwikkelen. Uit de groep met een hoog risico zijn bijvoorbeeld HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73 en 82 onderkend als tumorproducerend, terwijl uit de groep met een laag risico, HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 en 81 zich waarschijnlijk niet zullen ontwikkelen tot een kwaadaardige ziekte.^{7,8} Identificatie van de HPV-risicogroep via een op een objectglaasjes gebaseerde *in-situ* hybridisatietest (ISH) in combinatie met conventionele

morfologische glaasjesevaluatie kan een verbetering betekenen van de klinische besluitvorming.⁹

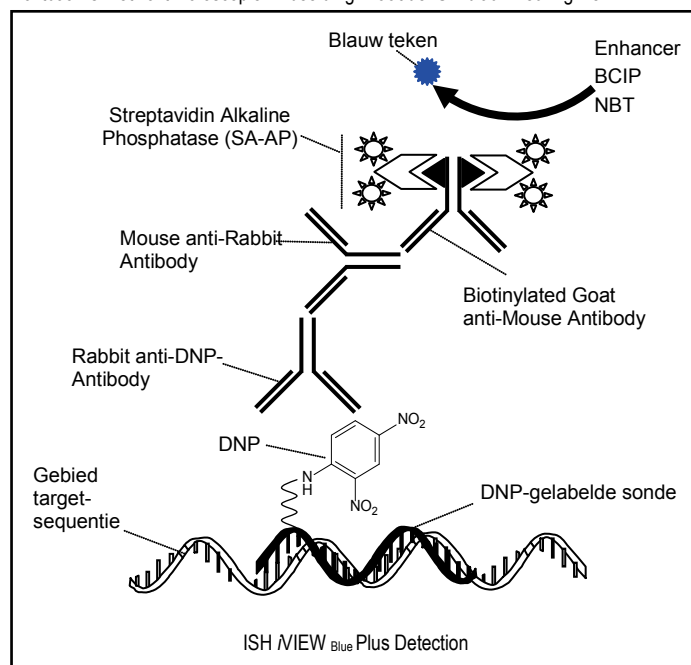
Een op een objectglaasje gebaseerde ISH-test is een makkelijk uit te voeren, betrouwbare en reproduceerbare methode om HPV te detecteren op in paraffine ingebedde weefselcoupes.¹⁰ Het detectieniveau van labels zowel met als zonder radio-isotopen met gebruik van genoomsondes blijkt bij gebruik van met formaline gefixeerde weefselmonsters niet hoger dan 10 tot 50 viruskopieën per cel te liggen.^{11,12}

Het ISH-systeem biedt verscheidene voordelen boven andere methoden waarvoor vernietiging van de targetcellen vereist is, bijvoorbeeld nucleïnezuur-capturetechnieken of de polymerase-kettingreactie (PCR). De voordelen kunnen het volgende omvatten: rechtstreekse correlatie met de cytologische bevindingen; vermogen om gearchiveerde monsters te testen; en vermogen om het HPV ISH-resultaat te identificeren in de context van de weefselmorfologie.

PRINCIPE VAN DE PROCEDURE

De INFORM HPV III Family 16 Probe (B) is geformuleerd voor toepassing met de ISH MIEW Blue Plus Detection Kit en bijbehorende reagentia op het BenchMark XT IHC/ISH-instrument.

De ISH MIEW Blue Plus Detection Kit detecteert specifieke DNP-gelabelde sondes en antilichamen die zijn gebonden aan een targetsequentie of antigeen in in paraffine ingebedde weefselcoupes. De gelabelde sonde of het gelabelde antilichaam wordt gelokaliseerd door een anti-DNP-antilichaam, vervolgens door een enzyme-gelabeld secundair antilichaam of een door biotine gebonden secundair antilichaam. Deze stap wordt gevolgd door de toevoeging van een enzymconjugaat van streptavidine-AF (alkaline fosfatase) dat aan het biotine op het secundaire antilichaam wordt gebonden. Het complex wordt dan zichtbaar gemaakt met 5-bromo-4-chloro-3-indolylfosfaat (BCIP) en Nitro-Blue Tetrazolium (NBT)-chromogeen, dat een blauw precipitaat produceert dat onmiddellijk zichtbaar is met lichtmicroscopie. Afbeelding 2 laat de ISH-blauwkleuring zien.



Afbeelding 2. ISH MIEW Blue Plus Detection-reactie

MATERIALEN EN METHODES

Geleverd reagents

De INFORM HPV III Family 16 Probe (B) bevat voldoende reagents voor 50 tests.

Een dispenser van 10 ml van de INFORM HPV III Family 16 Probe (B) bevat ongeveer 3,4 µg/ml hoog risico-HPV genoomsonde-cocktail, gelabeld met DNP en humaan placentair blokkerend DNA in een op formamide gebaseerde hybridisatiebuffer.

Raadpleeg de bijsluiters van de te gebruiken VENTANA-detectiekit voor gedetailleerde beschrijvingen van: (1) Principes van de procedure, (2) Benodigde, maar niet meegeleverde materialen en reagentia, (3) Monsterafname en -preparatie voor analyse, (4) Kwaliteitscontroleprocedures, (5) Problemen oplossen, (6) Beoordeling van resultaten en (7) Algemene beperkingen.

Reconstitutie, mengen, verdunnen en titreren

Reconstitutie, menging, verdunning of titratie is niet nodig. Verdere verdunning kan resulteren in een afname van de specificiteit van de kleuring. De gebruiker dient toepassing van bovengenoemde ingrepen te toetsen.

BENODIGD MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

Kleuringsreagentia, zoals VENTANA detectiekits en bijbehorende artikelen, worden niet meegeleverd.

De volgende reagentia en materialen kunnen benodigd zijn, maar worden niet met de kit meegeleverd:

1. VENTANA HPV System Control Slides
2. VENTANA Alu Positive Control Probe II
3. VENTANA ISH Negative Control
4. VENTANA-ISH /VIEW^{Blue} Plus Detection Kit
5. VENTANA ISH Protease 1, 2 of 3*
6. VENTANA Red Counterstain II
7. VENTANA Reaction Buffer (10X)
8. VENTANA-SSC (10X)
9. VENTANA-EZ Prep (10X)
10. VENTANA-Cell Conditioning 2 (Pre-dilute)
11. VENTANA Liquid Coverslip (High Temperature)
12. BenchMark XT IHC/ISH-instrument
13. Barcode-etiketten (geschikte etiketten voor de controle en de sonde die wordt onderzocht)
14. 10% neutraal gebufferde formaline
15. Microtoom
16. Voor ISH geschikte microscoopobjectglaasjes
17. Positieve en negatieve controleglaasjes
18. Xyleen, histologische kwaliteit
19. Ethanol of reagensalcohol, histologische kwaliteit
20. Aceton
21. Gedemineraliseerd of gedestilleerd water
22. Afdakmedium en dekglasjes of automatische coverslipper
23. Kleurpotjes of -baden
24. Timer
25. Lichtmicroscop

* Waar nodig voor specifieke toepassingen.

Mogelijk zijn niet alle in de bijsluiters vermelde producten leverbaar in alle landen. Raadpleeg uw plaatselijke vertegenwoordiger.

BEWARING

Bewaar het product na ontvangst en wanneer het niet in gebruik is bij 2-8 °C. Niet invriezen. De gebruiker dient bewaarcondities die afwijken van de condities in de bijsluiters, te valideren.

Om een juiste afgifte van reagens en stabiliteit van de sonde te waarborgen moet na elk gebruik de dop worden teruggeplaatst en moet de dispenser onmiddellijk rechtopstaand in de koelkast worden geplaatst.

Op elke dispenser is de uiterste gebruiksdatum vermeld. Bij juiste bewaring is het reagens stabiel tot de op het etiket aangegeven datum. Gebruik het reagens niet meer na de uiterste gebruiksdatum die geldt voor opslag op de voorgeschreven wijze.

Omdat er geen duidelijke tekenen zijn waaruit valt op te maken dat het product instabiel is geworden, moeten er bij het testen van een nieuw monster tegelijkertijd positieve en negatieve controles worden uitgevoerd. Neem onmiddellijk contact op met het Roche-kantoor in uw regio als er aanwijzingen zijn voor instabiliteit van het reagens.

PREPARATIE VAN HET MONSTER

Routinematig bewerkte, met formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde weefsels zijn geschikt voor dit reagens. Om een goede kleuring te verkrijgen, moeten de weefselcoupes op de juiste dikte worden gesneden.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

1. Bestemd voor in vitro diagnostiek (IVD).
2. Uitsluitend voor professioneel gebruik.
3. De klinische gevoeligheid van de assay moet in het uitvoerend laboratorium worden gevalideerd.
4. Waarschuwing: het product bevat formamide. Formamide is toxisch bij inademing en matig toxisch bij opname via de mond. Het kan irritatie van de huid, ogen en slijmvliezen veroorzaken en wordt opgenomen via de huid. Het kan schadelijk zijn voor het ongeboren kind. Tref voorzorgsmaatregelen bij het omgaan met reagentia. Gebruik wegwerphandschoenen en draag geschikte beschermende kleding bij het omgaan met mogelijk kankerverwekkende of toxische stoffen.
5. Zorg ervoor dat het afvalstoffenreservoir leeg is voordat u een run op het instrument start. Als niet aan deze voorwaarde wordt voldaan, kan de afvalbak overlopen en loopt de gebruiker het risico op uitglijden en vallen.
6. Materiaal dat van mensen of dieren afkomstig is, moet op dezelfde manier worden behandeld als mogelijk biologisch gevaarlijk materiaal en moet met gepaste voorzorgsmaatregelen worden afgevoerd.
7. Zorg ervoor dat reagentia niet met de ogen en slijmvliezen in aanraking komen. Indien de reagentia met gevoelige lichaamsdelen in aanraking komen, dient u deze met veel water te spoelen.
8. Vermijd bacteriële besmetting van reagentia; dit kan tot onjuiste resultaten leiden.
9. De reagentia zijn in optimale mate verdund; verdere verdunning kan verlies van target-kleuring tot gevolg hebben. Dergelijke veranderingen moeten door de gebruiker worden gevalideerd.
10. Informeer bij gemeentelijke of hogere overheidsinstanties naar de aanbevolen afvoermethode.
11. Raadpleeg voor aanvullende veiligheidsinformatie het productveiligheidsinformatieblad en de symbolen- en gevarengids op www.ventana.com.

INSTRUCTIES VOOR GEBRUIK

Verwerking van preparaten na een procedure

Volg nadat de procedure is voltooid de volgende stappen voor een adequate dehydratie van gekleurde objectglaasjes. (Adequate dehydratie helpt te zorgen voor een optimale signaalvisualisering).

Dehydratieprocedure

1. Voor verwijdering van de afdekkingsoplossing moeten de glaasjes worden gewassen in twee opeenvolgende oplossingen van een mild afwasmiddel (gebruik geen afwasmiddel voor afwasmachines).
 2. Spoel de objectglaasjes gedurende ongeveer 1 minuut goed af met gedestilleerd water. Schud het overtollige water af.
 3. Plaats de glaasjes gedurende ongeveer 1 minuut in een bad met 80% ethanol.
 4. Plaats de glaasjes vervolgens gedurende ongeveer 1 minuut in een bad met 90% ethanol.
 5. Plaats de glaasjes vervolgens gedurende ongeveer 1 minuut in een bad met 100% ethanol.
 6. Plaats de glaasjes vervolgens gedurende ongeveer 1 minuut in een tweede bad met 100% ethanol.
 7. Doop de glaasjes 10 maal in 100% aceton (voor eenmalig gebruik; vervang de aceton na elke kleuringsrun). Laat de glaasjes niet in aceton liggen.
 8. Plaats de glaasjes gedurende ongeveer 30 seconden in het eerste xyleenbad.
 9. Plaats de glaasjes vervolgens gedurende ongeveer 30 seconden in een tweede xyleenbad.
 10. Breng coverslip aan op het glaasje.
- Opmerking: Om volledige dehydratie te waarborgen, moeten de ethanolbaden regelmatig worden verversd en kan een derde 100% ethanolbad worden toegepast.

KWALITEITSBEHEERSINGSPROCEDURES

Positieve monstercontrole

Bij elke uitgevoerde kleuringsprocedure moet een positieve monstercontrole (systeemniveaucontrole) plaatsvinden. De systeemniveaucontrole wordt gebruikt om er zeker van te zijn dat de sonde op het monster is toegepast en het instrument goed heeft gefunctioneerd. Dit monster moet zowel positief als negatief kleurende cellen of weefselcomponenten bevatten. Controlemonsters dienen biopsiemonsters of chirurgische monsters te zijn die op identieke wijze als patiëntenmonsters zijn voorbereid of gefixeerd. Dergelijke controlemonsters dienen alle stappen van de procedure door te lichten, van de preparatie tot en met de kleuring van het monster. Gebruik van een monster dat op dezelfde manier is gefixeerd of verwerkt als het monster van de patiënt, voorziet in een controle die geschikt is voor het verkrijgen van zekerheid over het naar behoren functioneren van de reagentia en het instrument. Bij een monster met een zwak positieve kleuring (d.w.z. met een gepuncteerd patroon) kan microscopisch onderzoek met een vergrotingsfactor van 20x tot 40x nodig zijn voor optimale kwaliteitsbeheersing en voor het aantonen van een geringe afbraak van reagens. Als de positieve controles geen positieve kleuring laten zien, moeten de resultaten met de onderzoeksmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Negatieve monstercontrole

Bij elke kleuringsprocedure moet een negatieve monstercontrole worden uitgevoerd. Het doel is het bewaken van onbedoelde kruisreacties van probe en antilichaam met cellulaire componenten. Hetzelfde monster dat voor de positieve monstercontrole wordt gebruikt, kan ook dienen als negatieve monstercontrole. De diverse onderling verschillende celtypen die in de meeste monsters aanwezig zijn, kunnen dienen als negatieve controle, maar dit moet door de gebruiker worden geverifieerd. De niet-kleurende bestanddelen moeten het ontbreken van specifieke kleuring aantonen en een indicatie van achtergrondkleuring geven. Wanneer in de negatieve controle onaanvaardbare kleuring optreedt, moet het resultaat met patiëntenmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Positieve reagenscontrole

Bij assayverificatie en bij het oplossen van problemen moet een positieve reagenscontrole worden uitgevoerd, aangezien de bereikbaarheid van DNA kan variëren afhankelijk van de fixatiemethode en de voorbehandeling van het monster. Bij deze assay kan Ventana Alu Positive Control Probe II als positieve controle worden gebruikt.

Negatieve reagenscontrole

De ISH-probe moet door een negatief controle-reagens worden vervangen bij elk monster dat wordt aangekleurd, als hulpmiddel bij de beoordeling van elk patiëntresultaat. Dit biedt een indicatie van niet-specifieke achtergrondkleuring voor elk objectglaasje. Kleur het objectglaasje, in plaats van met de ISH-probe, met Ventana ISH Negative Control. De incubatietijd van controlemateriaal moet overeenkomen met die van de probe.

De negatieve controle is vooral van belang vanwege de vaststelling dat de intestinale vorm van alkaline fosfatase kan worden aangetroffen in andere cellen dan de borstelzooam van intestinale epitheelcellen. Bovendien kunnen enzymen die Nitro Blue Tetrazolium kunnen reduceren tijdens de fixatie geconserveerd blijven.

Onverklaarde afwijkingen

Onverklaarde afwijkingen bij controles moeten direct worden gemeld aan uw plaatselijke servicevertegenwoordiger. Als de resultaten van de kwaliteitscontrole niet met de specificaties overeenstemmen, zijn de patiëntuitslagen ongeldig. Zie de paragraaf Problemen oplossen van deze bijsluit. Bepaal en corrigeer het probleem, herhaal vervolgens de patiëntmonsters.

Controle van de assay

Vóór het eerste gebruik van een reagens in een diagnostische procedure moet de werking van het reagens zijn geverifieerd door het te testen op een serie monsters met bekende ISH-werkings eigenschappen. Deze procedures voor kwaliteitsbewaking dienen te worden herhaald voor elke nieuwe partij reagentia of telkens als er een wijziging is in de testparameters.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Een gekwalificeerde patholoog met ervaring in de microscopische interpretatie van anatomische pathologiemonsters, ISH-procedures en de herkenning van *in-situ* hybridisatieresultaten (waarvoor microscopisch onderzoek is vereist met behulp van 20x-, 40x- en/of 60x-objectief) moet de controles beoordelen vóór interpretatie van de resultaten.¹³ De aanwezigheid van een blauw reactieproduct in cervicale epitheelnuclei in hetzij een homogene hetzij een gepuncteerd kleuringspatroon is indicatief voor positieve reactiviteit. Het homogene patroon verschijnt als een groot, uniform, globulair donkerblauw

precipitaat binnen de epitheliale celnucleus. Over het algemeen komt dit prominent voor in het oppervlakkig verhoorde gebied van het epitheel, vaak binnen koilocytotische cellen. Het spikkelpatroon is een duidelijk gestippeld donkerblauw nucleair patroon. Dit komt vaker voor in celtgroepen in een meer basale locatie binnen het epitheel. In sommige gevallen is voor het spikkelpatroon een sterke vergroting (40x-objectief) nodig.

Het is van groot belang dat alleen nucleaire kleuring van epitheelcellen als positief wordt beschouwd om een fout-positieve beoordeling te voorkomen. Niet-cellulaire stromale precipitaten en cytoplasmatische kleuring van neutrofielen en plasmacellen geven een niet-specifieke artefactische kleuring aan.

Bij de interpretatie van elk ISH-resultaat moet ook de morfologie van elk monster worden onderzocht aan de hand van een met H&E gekleurde coupe. De morfologische bevindingen bij de patiënt en diens relevante klinische gegevens moeten samen met de ISH-resultaten worden beoordeeld.

Opmerking: Gebruik van 100x-objectief wordt niet aangeraden. Alle verificatie- en validatietesten van het model werden uitgevoerd met behulp van 20x-, 40x-en/of 60x-objectieven.

Controles

De gekleurde positieve reagentia- en monstercontroles moeten als eerste worden onderzocht, zodat zekerheid wordt verschaft dat alle reagentia goed functioneren. De aanwezigheid van een discreet, blauw reactieprecipitaat in de nuclei van de doelcellen duidt op positieve reactiviteit.

De negatieve reagentia- en monstercontroles moeten na de positieve controles worden onderzocht, zodat de specificiteit van de reactie kan worden geverifieerd. In de negatieve controle mag geen specifieke kleuring optreden. Als kleuring optreedt, kan dat wijzen op niet-specifieke kruisreactiviteit op cellen of cellulaire componenten. Voor het beoordelen van de kleuring moeten intacte cellen worden gebruikt, aangezien necrotische of gedegenerende cellen vaak niet-specifiek kleuren.

Als positieve of negatieve controles geen bijbehorende kleuring laten zien, moeten de resultaten met de onderzoeksmonsters als ongeldig worden beschouwd.

Patiëntenmonster

Patiëntmonsters moeten als laatste worden onderzocht. De intensiteit van positieve kleuring moet worden geschat in de context van eventuele achtergrondkleuring van de negatieve reagenscontrole. Een negatief resultaat wil zeggen dat de betreffende DNA-sequentie niet is aangetoond, dus niet noodzakelijkerwijs dat de sequentie niet in de onderzochte cellen voorkomt. Elk monster dient ook op morfologische kenmerken te worden onderzocht, waarbij een met haematoxyline-eosine gekleurde coupe wordt gebruikt bij de beoordeling van de resultaten van de ISH-test. De morfologische resultaten en de bijbehorende klinische gegevens van de patiënt moeten door een erkend patholoog worden geïnterpreteerd.

BEPERKINGEN

1. ISH is een uit veel stappen bestaand diagnostisch proces dat gespecialiseerde scholing vereist in het kiezen van de geschikte reagentia en monsters, de verwerking van het monster, het samenstellen van het ISH-preparaatglaasje en de beoordeling van de resultaten.
2. De kwaliteit van de weefselkleuring is afhankelijk van de wijze van behandeling en bewerking van het weefsel voorafgaand aan de kleuring. Onjuist fixeren, bevriezen, ontdooien, afspoelen, dehydreren, verhitten of couperen van het monster of verontreiniging daarvan met ander weefselmateriaal of andere vloeistoffen, kan resulteren in artefacten en fout-positieve of fout-negatieve resultaten.
3. Afwijkende resultaten kunnen het gevolg zijn van afwijkingen in de wijze waarop een monster wordt gefixeerd of ingebed of van afwijkingen die inherent zijn aan het weefsel.
4. Overmatige of onvolledige tegenkleuring kan de juiste interpretatie van resultaten in de weg staan.
5. De klinische beoordeling van positieve kleuring, of de afwezigheid daarvan, moet plaatsvinden in het licht van de ziektegeschiedenis en de morfologische kenmerken en moet worden aangevuld met gepaste controles en andere diagnostische testen. Het behoort tot de verantwoordelijkheden van een erkend patholoog ervoor te zorgen vertrouwd te zijn met de probes, de reagentia en de methoden die worden gebruikt om het gekleurde preparaat tot stand te brengen. Kleuring moet worden uitgevoerd onder toezicht van een patholoog die verantwoordelijk is voor het beoordelen van de gekleurde glaasjes en na bevestiging dat er sprake is van de juiste positieve en negatieve controles.

6. Er kunnen bij niet eerder geteste monsters met de reagentia onvoorziene reacties optreden. De mogelijkheid van het optreden van onvoorziene reacties, zelfs bij geteste monstergroepen, kan niet volledig worden weggenomen vanwege de biologische variabiliteit van doelsequenties in biologische monsters. Neemt contact op met het plaatselijke kantoor van Ventana met gedocumenteerde onvoorziene reacties.
7. Door de verscheidenheid in monsterbewerkingsmethoden kan het nodig zijn de ISH-proteasebehandelingstijd van afzonderlijke monsters te verlengen of te bekorten. Dergelijke wijzigingen dienen door de gebruiker gevalideerd te worden.
5. Birner P, Schindl M, Stani J, Oberhuber G, Czerwenka K, Vutuc C, Breitenacker G. Hybrid capture based human papillomavirus typing in cervical screening compared to cytology and histology. *Wien Klin Wochenschr.* 2000;112(17):761-766.
6. Nindl I, Greinke C, Zahm DM, Stockfleth E, Hoyer H, Schneider A. Human papillomavirus distribution in cervical tissues of different morphology as determined by hybrid capture assay and PCR. *Int J Gynecol Pathol.* 1997;16(3):197-204.
7. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers – a brief historical account. *Virology.* 2009;384(2):260-265.
8. Munoz N, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus type associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(6):518-527.
9. Delvenne P, Fontaine MA, Delvenne C, Nikkels A, Boniver J. Detection of human papillomaviruses in paraffin-embedded biopsies of cervical intraepithelial lesions: analysis by immunohistochemistry, in situ hybridization, and the polymerase chain reaction. *Mod Pathol.* 1994;7(1):113-119.
10. Zehbe I, Hacker GW, Su H, Hauser-Kronberger C, Hainfeld JF, Tubbs R. Sensitive in situ hybridization with catalyzed reporter deposition, streptavidin-Nanogold and silver acetate autometallography: detection of single-copy human papillomavirus. *Am J Pathol.* 1997;150(5):1553-1561.
11. Zehbe I, Rylander E, Strand, A, Wilander E. Use of Probemix and OmniProbe biotinylated cDNA probes for detecting HPV infection in biopsy specimens from the genital tract. *J Clin Pathol.* 1993;46(5):437-440.
12. Unger, ER. In situ diagnosis of human papillomaviruses. *Clin Lab Med.* 2000;20(2):289-301.
13. Evans MF, Aliesky HA, Cooper K. Optimization of biotinyl-tyramide-based in situ hybridization for sensitive background-free applications on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue specimens. *BMC Clin Pathol.* 2003;3(1):2.

SAMENVATTING VAN DE VERWACHTTE RESULTATEN

1. Ventana INFORM HPV III Family 16 Probe (B), ISH *VIEW* Blue Plus Detection Kit en de bijbehorende reagentia, in combinatie met een BenchMark IHC/ISH-instrument resulteren in een blauw precipitaat op de sites van de targetsequenties die door de ISH-probes zijn gelokaliseerd.
2. De specificiteit en sensitiviteit van de targetsequenties zijn door Ventana geoptimaliseerd en getest. De probe-cocktail vertoonde positieve hybridisatie met de volgende HPV-genotypen: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56, 58 en 66 in cervixbiopsies. Er kan zowel een homogeen als een gepuncteerd HPV-kleuringspatroon (zoals waargenomen in HeLa-cellen, 10–50 viruskopieën¹⁵) worden gedetecteerd.
3. De Intra run- en Inter run-reproduceerbaarheid van kleuring met de INFORM HPV III Family 16 Probe (B) is bepaald door het kleuren van 60 multiblok-preparaten (bestaand uit coupes geprepareerd van met formale gefixeerde in paraffine ingebedde CaSki-, HeLa- en T24-cellijnen). De objectglasmaasjes werden gekleurd op 2 verschillende BenchMark- en 2 verschillende BenchMark XT IHC/ISH-instrumenten, met 3 procedures per instrument. Alle glasmaasjes kleurden met een vergelijkbare intensiteit. Gebruikers moeten de resultaten van de reproduceerbaarheid binnen de run (intra-run) verifiëren door meerdere sets van seriële coupes met lage, gemiddelde en hoge doelsequenties binnen één run te kleuren.

PROBLEMEN OPLOSSEN

1. Indien de positieve controle negatief uitvalt, dan moet worden gecontroleerd of de streepjescode van het preparaatglasmaasje klopt.
2. Als de positieve controle negatief is of zwakkere kleuring vertoont dan voorzien, dan moeten andere positieve controles (bv. positieve weefselcontroles op het preparaat van het patiëntmonster) die in dezelfde procedure zijn gekleurd worden gecontroleerd om te bepalen of het achterwege blijven van de kleuring aan het preparaatglasmaasje of aan de gebruikte reagentia ligt. Monsters die niet op de juiste wijze zijn afgenomen, gefixeerd, bewaard of gedeparaffiniseerd kunnen een onjuiste kleuring vertonen.
3. Als het monster van het preparaatglasmaasje is afgespoeld, moeten de preparaatglasmaasjes worden gecontroleerd om zeker te stellen dat ze positief zijn geladen.
4. Wanneer de glasmaasjes naaldvormige artefacten vertonen als gevolg van de detectiechemicaliën, is het dehydratieproces niet geheel voltooid. Raadpleeg in zo'n geval paragraaf Dehydratieprocedure.
5. Indien er niet-specifieke verkleuring van het glas of niet-specifieke verkleuring van delen van het weefsel (in het bijzonder in andere gebieden dan het plaveiselepitheel) worden waargenomen, moet er een bijkomende coupe van het patiëntmonster worden gekleurd.
6. Raadpleeg voor corrigerende handelingen het hoofdstuk Procedure Stap-voor-stap in de gebruiksaanwijzing voor het BenchMark IHC/ISH-instrument of neem contact op met uw plaatselijke Roche-kantoor.

LITERATUUR

1. HPV Sequence Database (<http://www.stdgen.lanl.gov/stdgen/virus/hpv/>).
2. WHO/ICO HPV Information Center. Human Papilloma Virus and Related Cancers. Summary Report Update. November 15, 2010. p8. http://apps.who.int/hpvcentre/statistics/dynamic/ico/country_pdf/XWX.pdf?CFID=5730279&CFTOKEN=65827281.
3. HPV Information Centre. <http://www.hpvcentre.net/aboutus.php>
4. Clinical Microbiology and Infection © 2015 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved, CMI, 21, 808-816.

INTELLECTUEEL EIGENDOM

VENTANA, BENCHMARK en INFORM zijn geregistreerde handelsmerken van Roche.

Alle andere handelsmerken zijn eigendom van hun respectievelijke eigenaren.

© 2017 Ventana Medical Systems, Inc.

CONTACTGEGEVENS



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany

www.ventana.com