

VERWENDUNGSZWECK

Der Prevo-Check® ist ein in-vitro diagnostischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen HPV16 L1 in Vollblut und Serum. Der Test ist ein Hilfsmittel zur Ermittlung des HPV16 L1 Antikörperstatus im Rahmen der Früherkennung von HPV16-bedingten Karzinomen im Kopf-Hals-Bereich und der Anogenitalregion.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Zahl der Neuerkrankungen an HPV-bedingten Plattenepithelkarzinomen ist stark im Anstieg begriffen. Geschlechterspezifisch sind wesentliche Unterschiede hinsichtlich der Lokalisation der Kanzerosen erkennbar. Während Frauen überwiegend von Anogenitalkarzinomen betroffen sind, erkranken Männer in erster Linie an HPV-bedingten Kopf-Hals-Tumoren. Inzwischen stellen Karzinome im Mund und insbesondere im Rachen die häufigste HPV-bedingte Tumorart in den USA und anderen entwickelten Ländern dar. Die Früherkennung dieser Tumoren ist maßgeblich für eine gute Prognose.

Die Anwesenheit erhöhter HPV16 L1 Antikörper weist bei nicht HPV-geimpften Personen spezifisch auf veränderte Zellen hin und sind als Indikator für Krebsvorstufen bzw. Tumoren zu werten, was insbesondere bei augenscheinlich gesunden Personen von besonderer Bedeutung im Rahmen einer Früherkennungsuntersuchung ist.

Während es bislang keine aussagekräftige und praktikable serologische Methode der Früherkennung für HPV-bedingte Tumoren gab, ist nun der neue immunologische Schnelltest Prevo-Check® verfügbar. Die Abviris Deutschland GmbH hat diesen Nachweis von HPV16 L1 Antikörpern aus Vollblut- und Serumproben entwickelt. Der unter der Marke Prevo-Check® erhältliche Test ist so eingestellt, dass erhöhte Antikörpertiter als positives Ergebnis erkannt werden. Seine außergewöhnlich guten Leistungsdaten verdankt der Test der Verwendung eines HPV-16 spezifischen Antikörperklons, der gegen ein Protein gerichtet ist, das von Zellen gebildet wird, bei denen HPV16 schon aktiv in die Zellteilung eingegriffen hat. Das bedeutet, dass dieser Antikörper immer nur dann auftritt, wenn eine subklinische HPV16 Infektion in eine Krebsvorstufe oder ein Karzinom übergegangen ist.

TESTPRINZIP

Im 1. Schritt wird die Patientenprobe mit dem HPV Reagenz gemischt. Wenn HPV16 L1 Antikörper in der Probe vorliegen, bildet sich ein Komplex aus HPV Reagenz und HPV16 L1 Antikörper, wodurch das HPV Reagenz inaktiviert wird. Sind keine HPV16 L1 Antikörper in der Probe vorhanden, bleibt das HPV Reagenz reaktiv.

Im 2. Schritt wird diese Mischung auf die Probenöffnung der Kassette aufgetropft und läuft über eine Membran bis zur Reaktionszone. Dabei läuft das HPV Reagenz über ein Kissen, auf dem goldmarkierte Antikörper vorgelegt sind. Ist das HPV Reagenz nach Schritt 1 noch reaktiv, bildet sich mit den goldmarkierten Antikörpern ein Komplex aus, der in der Reaktionszone abgefangen wird. Eine Testergebnislinie wird sichtbar, da das HPV Reagenz noch reaktiv war. HPV16 L1 Antikörper, die das HPV Reagenz inaktiviert hätten, wurden nicht nachgewiesen. Wurde das HPV Reagenz durch Mischen mit der Patientenprobe (Schritt 1) inaktiviert, werden die goldmarkierten Antikörper nicht gebunden und in der Reaktionszone wird keine Testlinie sichtbar. Das Testergebnis ist positiv, HPV16 L1 Antikörper wurden nachgewiesen, da das HPV Reagenz inaktiviert wurde. Eine weitere davon unabhängige Antikörper-Reaktion in der Kontrollregion weist den korrekten Ablauf des Testes nach. Das Auftauchen der roten Linie in der Kontrollregion bestätigt, dass das Probenvolumen ausreichend war und der Test wie beabsichtigt abgelaufen ist. Diese Kontrolllinie muss in jedem Fall erscheinen, ungeachtet dessen, ob HPV16 L1 Antikörper nachgewiesen wurden oder nicht.

AUFBAU DES KASSETTENTESTS

Das Plastikgehäuse der Testkassette enthält einen Teststreifen, an dessen unterem Ende sich die Öffnung für die Probe (S) befindet. Darüber liegt die Öffnung der Reaktionszone. In der Reaktionszone finden Sie die Testregion (T) und Kontrollregion (C). Das Ergebnis in der Reaktionszone zeigt nach Testdurchführung an, ob HPV16 L1 Antikörper in der Patientenprobe vorhanden sind oder nicht.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Bewahren Sie das Testkit bei 2–30°C auf. Achten Sie darauf, Testpouches und Reagenzien verschiedener Testkitchargen nicht miteinander zu mischen. Der Test ist bis zu dem auf dem Folienbeutel und Kartonetikett aufgedruckten Verfallsdatum haltbar. Lassen Sie den Test bis zum Gebrauch in dem verschlossenen Folienbeutel, da er empfindlich gegen Luftfeuchtigkeit ist. Achten Sie darauf, die Testbestandteile vor Verunreinigungen zu schützen. Gebrauchen Sie das Pufferröhrchen nicht, wenn es Anzeichen für mikrobielle Kontamination oder Ablagerungen gibt. Biologische Kontamination der verwendeten Röhrchen bzw. des Reagenz kann zu falschen Ergebnissen führen.

MATERIALIEN

Mitgelieferte Materialien und Reagenzien

- 4 Röhrchen mit je 120 µl HPV Reagenz (HPV16 L1 Antikörper spezifisches Oberflächenprotein, nicht infektiös, in Puffer (beinhaltet 0,09% Natriumazid))
- 4 Testkassetten, einzeln verpackt
- 8 Pipetten
- 1 Gebrauchsanweisung

Zusätzlich benötigtes Material

- 1 Stoppuhr

VORSICHTSMAßNAHMEN

- Nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik
- Nur für den Einmalgebrauch
- Keine Reagenzien oder Testkassetten unterschiedlicher Chargen mischen. Das HPV Reagenz darf immer nur mit der dazugehörigen Testkassette verwendet werden
- Keine Bestandteile des Testkits einfrieren
- Testbestandteile nicht nach Verfallsdatum verwenden
- Lagern Sie das Testkit bei 2–30°C
- Nicht essen, trinken oder rauchen, wo Proben und Testkits verwendet werden
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille
- Der Test ist feuchtigkeitsempfindlich. Test nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt ist
- Die Tests sollten bis zur Verwendung im verschlossenen Folienbeutel bleiben
- Bringen Sie alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (15–30°C)
- Berühren Sie das Reaktionsfeld nicht, um einer Kontamination vorzubeugen
- Geben Sie keine Probenflüssigkeit in das Reaktionsfeld
- Vermeiden Sie Kreuzkontamination verschiedener Proben, indem Sie für jede Probe einen neuen Probenbehälter und neue Pipetten verwenden
- Verwenden Sie nicht mehr als die erforderliche Menge der Reagenzflüssigkeiten
- Der Puffer ist leicht reizend. Bei Haut- bzw. Augenkontakt mit reichlich Wasser spülen
- Der Puffer enthält Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer zu potentiell explosiven Metallaziden reagiert. Beim Entsorgen der Lösungen mit reichlich Wasser nachspülen, um die Azidbildung zu vermeiden
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten
- Beachten Sie die Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während der Testdurchführung sowie Standardverfahren für die korrekte Probenentsorgung
- Der benutzte Test sollte gemäß lokaler Vorgaben entsorgt werden
- Feuchtigkeit und hohe Temperaturen können das Ergebnis beeinträchtigen
- Von den potentiell infektiösen Materialien (z. B. Antikörper) oder anderen Stoffen des Tests (z. B. Chemikalien) geht bei sachgerechter Anwendung entsprechend der Anleitung keine Gefahr aus

PROBENTNAHME UND VORBEREITUNG

Der Test kann mit Vollblut (kapillar und venös) oder Serum durchgeführt werden. Die Entnahme und Behandlung der Proben ist im Folgenden beschrieben:

Vollblut aus oraler Kontaktblutung

1. Frisches Blut aus der Kontaktblutung (z. B. während einer professionellen Zahnreinigung) mit der Pipette, die im Testkit enthalten ist, entnehmen. Es kann auch tropfendes Blut verwendet werden. Vermeiden Sie dabei den Kontakt mit Zunge und Wangen.
2. Verwenden Sie das Blut sofort, um Gerinnung zu vermeiden und beginnen Sie unverzüglich mit der Testdurchführung. Vollblutproben dürfen nicht eingefroren werden.

Kapillarblut / Vollblut (z. B. Fingerbeere oder Ohrfläppchen)

1. Reinigen Sie die Einstichstelle mit Alkohol oder anderen Desinfektionsmitteln. Massieren Sie den Finger in Richtung der Einstichstelle ohne diese zu berühren.
2. Punktieren Sie die Fingerkuppe mit einer Lanzette.
3. Entfernen Sie den ersten Tropfen Blut. Massieren Sie dann den Finger erneut in Richtung der Einstichstelle, um ausreichend Blut zu gewinnen.
4. Sammeln Sie einen Tropfen Blut mithilfe der beiliegenden Pipette.
5. Befolgen Sie die Anweisungen des Kapitels „Testdurchführung“.
6. Verwenden Sie das Blut sofort, um Gerinnung zu vermeiden, und beginnen Sie unverzüglich mit der Testdurchführung. Vollblutproben dürfen nicht eingefroren werden.

Venöses Vollblut

1. Sammeln Sie eine Vollblutprobe entsprechend den einschlägigen Richtlinien. Bitte nutzen Sie eine mitgelieferte Pipette um einen Tropfen Blut aus dem Blutentnahmeröhrchen zu entnehmen.
2. Befolgen Sie die Anweisungen des Kapitels „Testdurchführung“.
3. Verwenden Sie das Blut sofort, um Gerinnung zu vermeiden, und beginnen Sie unverzüglich mit der Testdurchführung. Vollblutproben dürfen nicht eingefroren werden.

Serum

1. Verwenden Sie 25 µl des Serums pro Testvorgang.

TESTDURCHFÜHRUNG

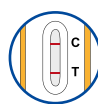
Bringen Sie den Test, die Reagenzien und/oder externe Kontrollen vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15–30°C). Bitte beachten Sie, dass die Testkassette und das Reagenzröhrchen erst unmittelbar vor der Durchführung des Prevo-Check® geöffnet werden. Für die Testdurchführung nur Reagenzien zusammen mit Testkassetten des gleichen Reagenzkits nutzen.

1. Nehmen Sie ein Röhrchen mit HPV Reagenz und fügen Sie 1 Tropfen (30µl) Vollblut (alternativ 25 µl Serum) dazu. Vermischen Sie die Probe mit dem HPV Reagenz durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren. Verschließen Sie das Röhrchen. Durch mehrmaliges Schütteln stellen Sie sicher, dass ggf. im Röhrchendeckel verbliebene Restflüssigkeit des HPV Reagenz in den Mischprozess mit einbezogen wird.
2. Stoßen Sie das verschlossene Röhrchen einmal leicht mit dem Boden auf eine feste Oberfläche, um im Deckel verbliebenes Reagenz zurückzuführen.
3. Stellen Sie das Röhrchen in einen Halter und lassen Sie die Mischung 10 Minuten inkubieren. Entsorgen Sie die erste Pipette.
4. Entnehmen Sie die Testkassette aus dem Folienbeutel und legen Sie die Kassette auf eine ebene Unterlage. Verwenden Sie diese so bald wie möglich, spätestens innerhalb 1 Stunde.
5. Nehmen Sie die zweite Pipette und geben Sie 4 Tropfen der Mischung aus dem Röhrchen in die Probenöffnung (S) der Testkassette. Vermeiden Sie dabei Lufteinschlüsse in der Probenöffnung (S) und geben Sie keine Flüssigkeit in das Reaktionsfeld. Beginnen Sie mit der Zeitmessung.
6. Werten Sie den Test nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 15 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten, um fehlerhafte Ergebnisse zu vermeiden!

TESTAUSWERTUNG

Für die Interpretation des Testergebnisses werden die im Reaktionsfeld entstandenen Linie/n visuell ausgewertet.

NEGATIV



Es erscheinen 2 Linien. Eine Linie erscheint im Bereich der Kontrolllinie (C) und eine weitere im Bereich der Testlinie (T). Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass keine HPV16 L1 Antikörper in der Probe vorhanden sind oder diese unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Hierbei können die Linien unterschiedlich stark gefärbt sein.

POSITIV



Eine Linie erscheint in dem Bereich der Kontrolllinie (C). Es erscheint keine Linie im Bereich der Testlinie (T). Ein positives Ergebnis zeigt an, dass HPV16 L1 Antikörper in der Probe vorhanden sind.

UNGÜLTIG



Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint. Überprüfen Sie die Testdurchführung und wiederholen Sie den Test. Besteht das Problem weiterhin, stellen Sie die Verwendung des Testkits ein und wenden Sie sich an Ihren Lieferanten.

QUALITÄTSKONTROLLE

Interne Qualitätskontrolle

Der Test enthält eine interne positive Verfahrenskontrolle: eine rote Linie, die im Bereich der Kontrolllinie (C) erscheint. Sie bestätigt, dass ein ausreichendes Probenvolumen aufgetragen wurde und zeigt an, dass die Membrandurchfeuchtung hinreichend und die Vorgehensweise korrekt sind. Es wird darüber hinaus empfohlen, eine interne Qualitätskontrolle gemäß der lokalen, nationalen bzw. regionalen Vorgaben durchzuführen.

Externe Qualitätskontrolle

Kontrollstandards sind dem Kit nicht beigelegt. Im Rahmen einer guten Laborpraxis (good laboratory practice) werden auf die lokalen und nationalen Vorgaben zur Qualitätssicherung verwiesen.

BEFUNDUNG

Im Falle eines positiven Ergebnisses verfahren Sie entsprechend der für Sie gültigen Leitlinie für die Erkennung und Behandlung von HPV-bedingten Tumoren. Sollten keine einschlägigen Richtlinien bestehen, kann folgende Vorgehensweise angeraten sein.

1. Unternehmen Sie eine gründliche Untersuchung der gesamten Mundhöhle und insbesondere des Rachens; Abstriche von verdächtigen Arealen wie Läsionen sollten durch einen Pathologen untersucht werden.
2. Überweisen Sie den Patienten an einen Facharzt.
3. Eine regelmäßige, gründliche Untersuchung der Mundhöhle inkl. Oropharynx sollte alle 3–6 Monate über einen Zeitraum von 2 Jahren durchgeführt werden.

Wichtiger Hinweis

HPV16 kann auch andere Schleimhautzellen (z. B. im Anal- oder Genitalbereich) infizieren. Insofern die gründliche Untersuchung des Kopf-Hals-Bereichs zu keinem Befund führt, sollte auch die Anogenitalregion durch Spezialisten untersucht werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Wie bei allen diagnostischen Untersuchungen sollte eine klinische Diagnose nicht nur auf dem Ergebnis eines einzelnen Tests basieren, sondern sollte nach Auswertung aller klinischen Befunde und Laborbefunde vorgenommen werden.
- Ein negatives Testergebnis schließt eine HPV Infektion nicht aus.
- Die Prevo-Check® Tests sind nur für die In-vitro diagnostische Verwendung bestimmt. Der Test darf nur für den Nachweis von HPV16 L1 Antikörpern in Vollblutproben und Serum verwendet werden. Die HPV16 L1 Antikörperkonzentration kann mit diesem Test nicht quantitativ bestimmt werden.
- Bei Personen, die gegen HPV16 geimpft sind, sind ebenfalls hohe Antikörpertiter zu erwarten. Der Test sollte bei geimpften Personen nicht durchgeführt werden, da ein positives Ergebnis zu erwarten ist, auch wenn keine HPV16 Infektion vorliegt. Ein negatives Testergebnis schließt eine Infektion mit HPV nicht aus.
- Prevo-Check® Ergebnisse können bei Patienten während der Dauer einer Immunadsorptionstherapie negativ ausfallen. Eine Wiederholung des Tests nach der Behandlung wird empfohlen.
- Der Prevo-Check® weist nur Antikörper gegen HPV16 L1 nach. Ein Nachweis von Antikörpern mit dem Prevo-Check® sagt nichts über die Anwesenheit von Antikörpern anderer HPV Typen aus.

LEISTUNGSMERKMALE

DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT / SPEZIFITÄT

Eine Studie mit insgesamt 925 Proben von Patienten mit bekanntem klinischen Status belegen die Sensitivität und Spezifität mit Prevo-Check®. Darunter waren Proben von klinisch gesunden Personen mit einem Alter ≥30 Jahren, die keine klinischen Anzeichen für Tumore oder Infektionen (CRP <1,0 mg/L) zeigten, Proben von Patienten mit klinisch bestätigten HPV16-induzierten Kopf-Hals Tumoren, die zuvor positiv auf HPV16 DNA sowie auf p16ink4a getestet wurden und Proben von HIV-positiven Patienten, bei denen die Probenentnahme im Jahr vor der Diagnose eines HPV16-induzierten Analkarzinoms stattfand. Aus den Daten ergibt sich eine Spezifität von 99,3% (95% CI 98.6% – 99.8%). Die Sensitivität für HPV16-induzierte Oropharynxkarzinome zum Zeitpunkt der Diagnosestellung betrug 95%. Die Sensitivität für HPV16-induzierte Analkarzinome bei HIV-positiven Patienten betrug in dem Jahr vor Tumordiagnose 90%. Die Richtigkeit der Ergebnisse des Prevo-Check® im Vergleich zum klinischen Status betrug 99,1% (95% CI 98.3%–99.6%).

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT / SPEZIFITÄT / HOOK EFFEKT

Die analytische Sensitivität des Prevo-Check® Schnelltests wurde unter Verwendung des HPV16 L1 epitop-spezifischen Antikörperklons der Zelllinie ACC3306 bestimmt. Bis zu einer Antikörperkonzentration von 100 µg/ml konnte kein Hook-Effekt beobachtet werden. Aufgrund des kompetitiven Testprinzips ist selbst für noch höhere Antikörperkonzentrationen kein Hook Effekt zu erwarten. Es wurde keine Kreuzreaktivität zu Antikörpern gegen die HPV Typen 8, 11, 18, 35 und 39 bei einer Konzentration von 16 IU/ml (Typ 18) bzw. 10 µg/ml beobachtet.

Der Test zeigt keine Interferenzen mit folgenden Substanzen: Gesamtserumprotein (100 g/L), davon Albumin (55 g/L), Immunglobulin (35 g/L), Hämoglobin (1 g/L); Lipide (15 g/L), davon Cholesterin (6 g/L), Triglyceride (4.5 g/L); Acetaminophen (20 mg/dl); Acetylsalicylsäure (20 mg/dl); Ampicillin (4 mg/dl); Ascorbinsäure (20 mg/dl); Bilirubin (10 mg/dl); Koffein (20 mg/dl); Kreatinin (200 mg/dl); Ethanol (0.4%); Glucose (2000 mg/dl); Ibuprofen (20 mg/dl); Rheumafaktor (200 IU/ml).









INTER- UND INTRACHARGENVARIANZ / REPRODUZIERBARKEIT

Die Untersuchungen zu Inter- und Intrachargenvarianz sowie Reproduzierbarkeit zwischen unterschiedlichen Anwendern zeigten absolut äquivalente Ergebnisse.

LITERATUR

1. Frazer, Ian, 2007. Correlating Immunity with protection for HPV infection, International Journal of Infectious Diseases 11 (Supplement 2), S10-S16.
2. Krebs in Deutschland 2007/2008. 8. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2012, ISBN 978-3-89606-214-7
3. Applebaum, Katie M., et al., 2007, Lack of Association of Alcohol and Tobacco with HPV16-Associated Head and Neck Cancer, Journal of the National Cancer Institute, Oxford Journals, 2007;99:1801-10
4. D'Souza G et al., Case-Control Study of Human Papillomavirus and Oropharyngeal Cancer, in The New England Journal of Medicine, 356/2007, S.1944-56.
5. Weiland, Thomas et al, DRH1 – a novel blood-based HPV tumour marker, EBioMedicine 56 (2020) 102804, S. 1-11.

SYMBOLERLÄUTERUNGEN

| | | | |
|---|---------------------------------|---|------------------------|
|  | Nur für die In-Vitro-Diagnostik |  | Nur zum Einmalgebrauch |
|  | Inhalt |  | Verwendbar bis |
|  | Chargennummer |  | Lagertemperatur |
|  | Hersteller |  | Gebrauchsanleitung |