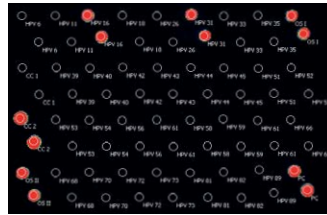




EUROArray HPV



- **Simultane Detektion und Typisierung aller 30 relevanten anogenitalen HPV-Subtypen in einer Reaktion**
- **Unterscheidung zwischen Hoch- und Niedrigrisiko-HPV-Subtypen**
- **Vollautomatische Auswertung mit dem EUROArrayScan-System**

Technische Daten

Substrat	Einzelsträngige DNA-Sonden, Länge: 15 bis 50 Nukleotide
Testablauf	PCR (ca. 60 min) / Hybridisierung (60 min) / vollautomatische Auswertung Gesamt-Arbeitszeit ca. 1,5 min je Probe (bei 40 Proben pro Lauf)
Reagenzien	Gebrauchsfertig
Kontrollen	DNA-Negativkontrolle und weitere integrierte Kontrollen
CE-IVD-Zertifikat	Kompletter Prozess inkl. DNA-Extraktion ist validiert
Packungsformat	5, 10 oder 20 Objektträger, jeder mit 5 Testfeldern oder 8 Objektträger jeweils mit 3 Testfeldern
Bestell-Nr.	MN 2540-0505, -1005, -2005, -0803

Klinische Bedeutung

Der EUROArray HPV dient zum molekulardiagnostischen Nachweis und zur Typisierung humaner Papillomviren (HPV), die in ursächlichem Zusammenhang mit der Entwicklung von Dysplasien, insbesondere von Zervixkarzinomen (Gebärmutterhalskrebs) stehen.

HPV-Direktnachweise spielen neben der Zytologie (Pap-Abstrich) im Rahmen der Früherkennung von Zervixkarzinomen eine besonders wichtige Rolle. Während man mit dem Pap-Abstrich nach bereits veränderten Gebärmutter-schleimhautzellen sucht, ist es mit einem PCR-basierten Nachweis möglich, eine HPV-Infektion zu erkennen, bevor sie eine morphologische Veränderung der Zellen verursacht. Derzeit sind 30 genitale HPV-Typen beschrieben, die bezüglich ihres onkogenen Potentials in zwei Gruppen, High-Risk- und Low-Risk-HPV, eingeteilt werden. Während High-Risk-HPV ursächlich an der Entstehung von Karzinomen beteiligt sind und in über 99% aller Zervixkarzinome nachgewiesen werden können, kommen Low-Risk-HPV alleine nur in nicht malignen Gewebeveränderungen vor. Die WHO hat die Genotypen 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 und 66 offiziell als krebserregend und damit als High-Risk-HPV eingestuft, wobei HPV 16 in 50 bis 60% und HPV 18 in 10 bis 20% der Zervixkarzinome nachweisbar sind. Es wurden allerdings auch weitere HPV wie 26, 53, 68, 73 und 82 in Zervixkarzinomen nachgewiesen und müssen daher als High-Risk-HPV betrachtet werden. Zu den Low-Risk-Viren zählen HPV 6 und 11 als Hauptverursacher von Warzen im Genitalbereich (Condylomata acuminata, „Feigwarzen“). Weitere Low-Risk-Typen sind 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 und 89 (CP6108).

Um den Verlauf und die Risiken einer Infektion mit HP-Viren beurteilen zu können, ist es sinnvoll, nicht nur eine Unterscheidung zwischen High- und Low-Risk-HPV, sondern ebenfalls eine Subtypisierung durchzuführen. Dies erlaubt in der Regel auch die Unterscheidung zwischen einer neuen und einer persistierenden Infektion und verbessert so die individuelle Risikoabschätzung, ein Karzinom zu entwickeln.

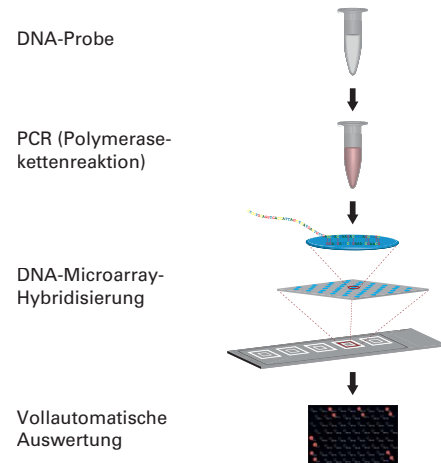
Stellenwert

Der EUROArray HPV trägt entscheidend zur Verbesserung der Früherkennung von Zervixkarzinomen bei. Der Test ermöglicht in einem einzigen Ansatz die gleichzeitige Detektion und Typisierung aller 30 relevanten anogenitalen High-Risk- und Low-Risk-HPV-Subtypen. Das Testsystem basiert auf dem Nachweis der viralen Onkogene E6/E7, deren Expression die Grundlage für die maligne Transformation einer Dysplasie darstellt.



Testprinzip

Das vorliegende Testsystem beruht auf der Vervielfältigung definierter Genabschnitte der humanen Papillomviren und dem anschließenden Nachweis über eine Hybridisierungsreaktion mit immobilisierten DNA-Sonden in einem Microarray-System. Als Probenmaterial dient eine DNA-Präparation zervikaler Abstriche der Patienten. Im ersten Analyseschritt werden mit Hilfe eines Multiplex-Primersystems in einer Polymerasekettenreaktion (PCR) von den in der Probe vorliegenden humanen Papillomviren Bereiche der viralen Onkogene E6 und E7 amplifiziert und dabei fluoreszenzmarkiert. In einem zweiten Schritt werden die entstandenen Produkte mit Hilfe eines Oligo-Nukleotid-Microarrays nachgewiesen. Die spezifische Bindung (Hybridisierung) des fluoreszenzmarkierten PCR-Produkts an seine korrespondierende Oligonukleotid-Sonde wird mit einem speziellen Microarray-Scanner detektiert. Die EUROArrayScan-Software wertet alle Spot-Signale automatisch aus und leitet daraus das Testergebnis ab.



Testdurchführung

Die PCR-Ansätze werden zunächst im Thermocycler und anschließend auf EUROArray-Objektträgern mit Microarray-BIOCHIPS unter Anwendung der TITERPLANE®-Technik inkubiert. Das Scannen und Auswerten erfolgt mit dem EUROArrayScanner (inkl. EUROArrayScan-Software). Dies ermöglicht eine vollautomatische Auswertung der EUROArray-Analysen und eine detaillierte Dokumentation der Ergebnisse.

Analytische Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze (Limit of Detection, LOD) des vorliegenden Testsystems liegt je nach HPV-Subtyp bei 50–200 DNA-Kopien/Reaktionsansatz, in Einzelfällen darüber. Die untere Nachweisgrenze versteht sich dabei als Mindestnachweisgrenze, in der Regel werden daher auch weniger Erreger-DNA-Kopien nachgewiesen.

Analytische Spezifität

Die Spezifität des Testsystems wird durch die Verwendung von spezifischen Primer- und SONDENSYSTEMEN für jeden nachzuweisenden HPV-Subtyp gewährleistet. Die erzeugten PCR-Amplifikate der verschiedenen HPV-Subtypen zeigen bei Einsatz von Template-DNA in einem Konzentrationsbereich zwischen der unteren Nachweisgrenze und 2 Millionen DNA-Kopien keine Kreuzreaktivitäten auf der Sonde eines anderen HPV-Subtyps.

Weiterhin wurden Kreuzreaktivitäten zu folgenden, im Anogenitalbereich gefundenen Mikroorganismen experimentell ausgeschlossen: *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium longum*, *Candida albicans*, *Chlamydia trachomatis*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium amycolatum*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus aerogenes*, *Enterococcus agglomerans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, Epstein-Barr-Virus, *Fusobacterium equinum*, *Fusobacterium nucleatum*, Herpes-simplex-Virus 1 und 2, *Lactobacillus acidophilus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Peptoniphilus harei*, *Streptococcus agalactiae*, *Trichomonas vaginalis*.

Evaluierung

Insgesamt wurden 188 klinische Proben aus zwei Kollektiven untersucht. Das Kollektiv 1 (n=115) lag konserviert in PreservCyt® Solution vor und wurde mit 5 verschiedenen CE/IVD gekennzeichneten HPV-Referenztests vorcharakterisiert. Für 114 Proben (99,2%) wurden mit dem EUROArray HPV Ergebnisse erzielt, die mit den Ergebnissen eines oder mehrerer Referenztests vollständig übereinstimmen.

Das Kollektiv 2 lag auf Whatman FTA Elute Cards (n=57) oder unprozessiert auf Baumwoll-Tupfern (n=16) vor und wurde mit einem HPV-Subtypisierungstest vorcharakterisiert. Insgesamt betrug der Anteil der Bestimmungen, bei denen eine vollständige Übereinstimmung erzielt oder nur durch den EUROArray HPV zusätzliche Subtypen detektiert wurden, für diese Proben 92,5%.

Literatur

1. Dickson EL, Vogel RI, Geller MA, Downs LS Jr. Cervical cytology and multiple type HPV infection: a study of 8182 women ages 31-65. *Gynecol Oncol.* (2014) Jun;133(3):405-8.
2. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br. J Cancer* 88 (2003) 63-73.
3. Coglianò V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El GF. Carcinogenicity of human papillomaviruses. *Lancet Oncol.* 6 (2005) 204.