

Zytologie

Gynäkozytologie / HPV-Typisierung

Die wichtigste Voraussetzung für eine spezifische zytologische Diagnostik ist der optimale Erhaltungszustand des Zellmaterials, der entscheidend von der Art der Vorbehandlung bzw. der Fixation abhängt.

Fixation der Ausstriche

Fixation in 96%igem oder absolutem Alkohol:

Nach dem Ausstreichen Objektträger **sofort** in den Alkohol stellen. Das Zellmaterial muss ganz von Flüssigkeit bedeckt sein.

Gefäss gut verschliessen und einsenden.

Fixation mit Cytostatspray:

Objektträger mindestens 10 x besprühen bis ein Film auf dem Zellmaterial sichtbar wird. Trocknen lassen.

Lufttrocknung des Materials muss bei beiden Fixationen vermieden werden. Die Alkoholfixation ist der Sprayfixation wenn möglich vorzuziehen.

Die entsprechenden Behälter und Cytostatspray sowie Auftragsformulare und Versandmaterial können bei uns direkt bezogen werden (www.zytologie.usz.ch).



Patientenname
mit Bleistift

Alkohol absolut
oder 96%



Dünnschichtmethode

Für die molekularbiologische Testung auf Humane Papillomaviren (HPV) bietet die sogenannte Dünnschicht- bzw. Flüssigmethode die Möglichkeit morphologisch auffällige Fälle selektiv, d.h. nach zytologisch gestellter Diagnose zusätzlich zu untersuchen; ein entsprechend diagnostizierter konventioneller Ausstrich bietet diese Untersuchungsmöglichkeit am gleichen Material nicht. Am Institut für Klinische Pathologie (Labor für Diagnostische Molekularpathologie) des UniversitätsSpitals Zürich wird die typenspezifische HPV-Diagnostik sowohl an konventionellen Ausstrichen, am Material der Dünnschicht-/Flüssigmethode als auch an biotischem Untersuchungsmaterial (Frisch- oder formalinfixiertes Gewebe) vorgenommen.

HPV-Typisierung: Gynäkozytologie kombiniert mit molekularbiologischer HPV-Diagnostik

Abstrichuntersuchungen der Portio- bzw. Cervix uteri - in Kombination mit der Kolposkopie - ermöglichen Vor- oder Frühstadien des Zervixkarzinoms (cervikale intraepitheliale Neoplasien [CIN] = squamöse intraepitheliale Läsionen [SIL]) frühzeitig zu erfassen und haben in den letzten 40 Jahren zu einer deutlichen Reduktion der Häufigkeit dieser Krebsart geführt. Neue molekularbiologische Ansätze erlauben heute die Sensitivität dieser zytologischen Krebsvorsorge-Untersuchung noch deutlich zu steigern (1). Epidemiologische Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass eine dauerhafte Infektion mit sogenannten Hoch-Risiko HPV-Typen (HPV = Humane Papilloma Viren) massgeblich an der Entstehung des Zervixkarzinoms beteiligt ist (2, 3), während Niedrig-Risiko Varianten nur zu reversiblen epithelialen Läsionen führen (Abb. A). Die im Rahmen gynäkologischer Untersuchungen gestellte Diagnose HPV-assoziiierter Epithelveränderungen des subklinischen bzw. klinisch-manifesten Stadiums der Infektion stützt sich auf den zytologischen Befund.

Die Bestimmung des HPV-Typs mit molekularbiologischen Mitteln ermöglicht jedoch eine über den morphologischen Befund hinausgehende Beurteilung des onkogenen Potentials dieser Viren (bekannte Hoch-Risiko HPV-Typen: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 68, 73 und 82; Niedrig-Risiko HPV-Typen: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 und cand89). Daher empfehlen wir bei entsprechender Fragestellung zum zytologischen Nachweis HPV-assoziierter Epithelveränderungen eine molekularbiologisch-virologische Untersuchung vorzunehmen (kombinierter Zytologie / HPV-Test).

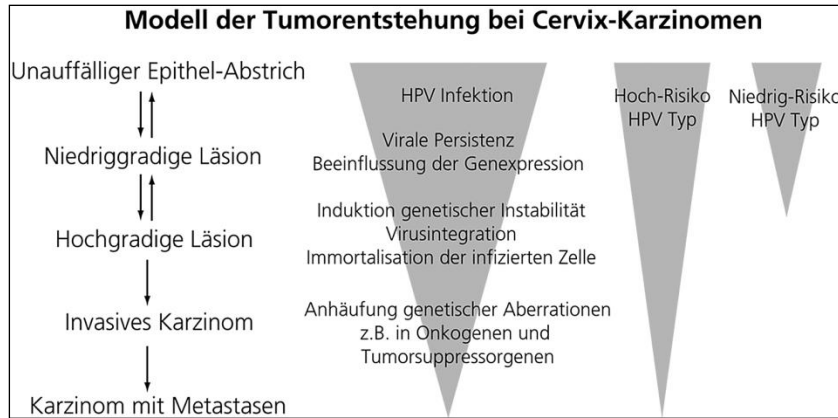


Abb. A: Nach neueren molekularen Studien stellt eine persistierende Infektion mit Hoch-Risiko HPV-Typen den Hauptrisikofaktor für die Entstehung des Zervixkarzinoms dar, während Niedrig-Risiko Varianten lediglich zu reversiblen epithelialen Läsionen führen.

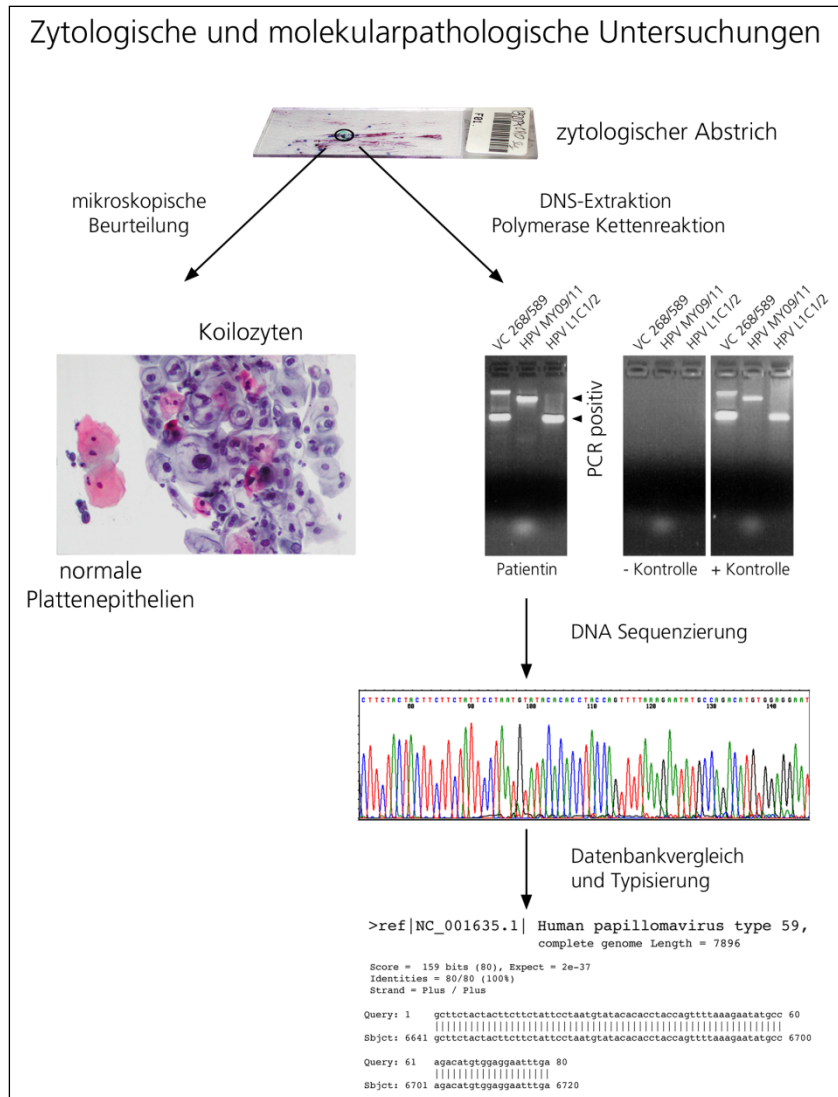


Abb. B: Bei der gynäkologischen Vorsorgeuntersuchung werden Zellproben entnommen, ein Teil auf einem Objektträger ausgestrichen und gefärbt (zytologischer Abstrich). Im Mikroskop wird das Präparat sorgfältig nach verdächtigen Zellen (sog. Koilozyten) abgesucht. Falls solche gefunden werden, wird mit molekularbiologischen Techniken (Polymerase Kettenreaktion, Sequenzierung) abgeklärt, ob in der Probe humane Papillomaviren (HPV) vorhanden sind und um welchen HPV-Typen es sich handelt. Im vorliegenden Beispiel wurde HPV-Typ 59 nachgewiesen.

Am Institut für Klinische Pathologie wird der Nachweis und die Typisierung von HPV mittels zweier unabhängiger Polymerase Kettenreaktionen (PCR), gefolgt von Sequenzanalyse und Datenbankvergleichen via Internet vorgenommen (Abb. B). Diese Analysen erfassen alle bisher bekannten und auch neue HPV Typen. Sie erlauben daher den Nachweis von Virus-Varianten, die von kommerziellen Tests auf Grund der begrenzten Anzahl verfügbarer typenspezifischer HPV-Sonden nicht oder nur beschränkt nachweisbar sind. Die HPV-Typisierung kann für eine weitere Differenzierung des therapeutischen Vorgehens bei Dysplasie (1), als Kontrolluntersuchung nach erfolgter chirurgischer Therapie (7) und für unklare zytologische Befunde (ASC-US/AGC = atypische squamöse/glanduläre cervikale Läsion unbestimmter Signifikanz) (8, 9) eingesetzt werden. Zudem zeigen neuere Arbeiten, dass bei Patientinnen ohne Hoch-Risiko HPV-Infektion keine Entwicklung einer präkanzerösen CIN3-Läsion zu erwarten ist (3, 4, 5). Bislang durchgeführte kontrollierte Untersuchungen (3, 6, 9) empfehlen die Einführung sogenannter „wait-and-see-Perioden“ (vgl. Beispiel in Abb. C): Insbesondere bei Patienten über 30 Jahre sollte bei zytologisch positiven Befunden (CIN 2 – 3 und ASC-US/AGC-Läsionen) eine HPV-Diagnostik durchgeführt werden; Patientinnen mit initial positiver und über 6 – 12 Monate persistierender Hoch-Risiko HPV-Infektion sollte eine Kolposkopie und gegebenenfalls eine entsprechende Therapie empfohlen werden. Dagegen sollten HPV-negative Patientinnen oder initial HPV-positive und nach 6 – 12 Monaten negativ getestete Patientinnen ohne weitere Therapie wieder in das Screening-Schema mit langen Untersuchungs-Intervallen aufgenommen werden.

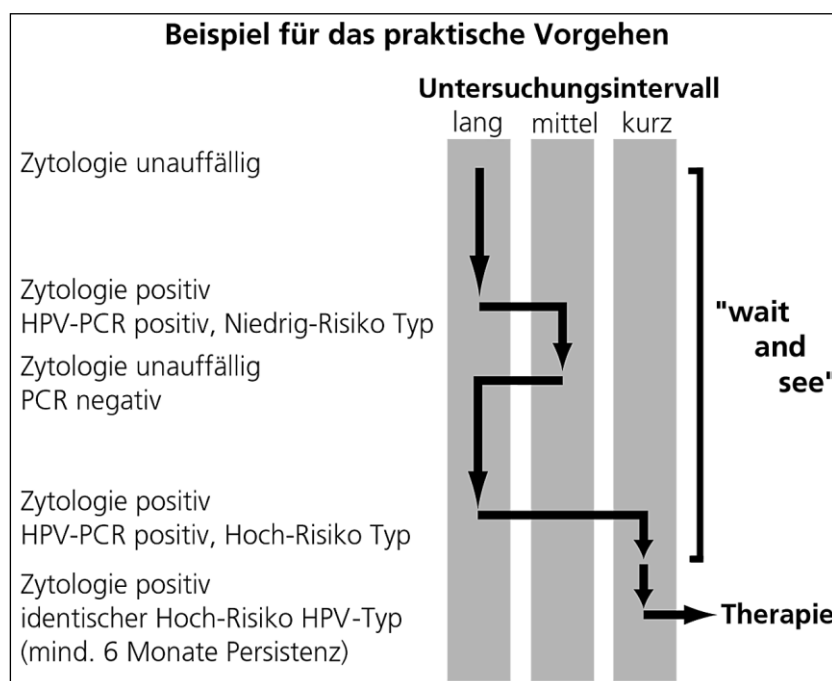


Abb C: Kontrollierte Studien empfehlen sogenannte „wait-and-see-Perioden“ mit auf das zytologische und molekularbiologische Ergebnis zeitlich abgestimmten Untersuchungsintervallen: Bei allen Patientinnen mit zytologisch positiven Befunden sollte eine HPV-Diagnostik durchgeführt werden. Therapiebedürftig sind insbesondere die über mehr als 6 – 12 Monate persistierenden, mit Hoch-Risiko HPV-Typen assoziierten Läsionen.

Literatur

1. Arbeitsgruppe Guideline zum Vorgehen bei suspektem und positivem zytologischen Abstrich der Cervix uteri; Schweiz Ärztezeitung 84:82-92 (2003)
2. Zur Hausen H.; J Natl Cancer Inst 92:690-698 (2000)
3. Nobbenhuis MAE et al.; Lancet 354:20-25 (1999)
4. Zielinski GD et al.; J Pathol 195:300-306 (2001)
5. Ho GYF et al.; N Engl J Med 338:423-428 (1998)
6. Nobbenhuis et al.; Lancet 358:1782-1783 (2001)
7. Kjellberg L et al.; Am J Obstet Gynecol 183:1238-1242 (2000)
8. Solomon D et al.; J Natl Cancer Inst 93:293-299 (2001)
9. Manos MM et al.; JAMA 281:1605-1610 (1999)

Angaben zur Einsendung von Proben

Die HPV-Untersuchung kann sowohl an zytologischen als auch an bioptischen Präparaten (Frisch- oder formalinfixiertes Gewebe) vorgenommen werden. Der Test wird einmal pro Woche durchgeführt. Die Ergebnisse der Untersuchung liegen nach etwa 7 Tagen bis spätestens zwei Wochen vor.

Achtung: Wegen der hohen Sensitivität der Methode besteht ein nicht zu vernachlässigendes Kontaminationsrisiko. Es ist deshalb unbedingt darauf zu achten, dass zytologische Abstriche verschiedener Patientinnen getrennt verarbeitet und eingesandt werden.

UniversitätsSpital Zürich
Institut für Pathologie und Molekularpathologie
Abteilung für Zytologie
Zytologie Labor PATH E 3
Schmelzbergstrasse 12
8091 Zürich / Schweiz

Annahmezeiten

Montag bis Freitag 07.00 – 17.30h, Histologie Labor PATH F 1
Samstag: 08.00 – 12.00h, Histologie Labor PATH F 1

Labor	Tel:	+41 44 255 39 41
Sekretariat	Tel:	+41 44 255 25 11
	Fax:	+41 44 255 45 52