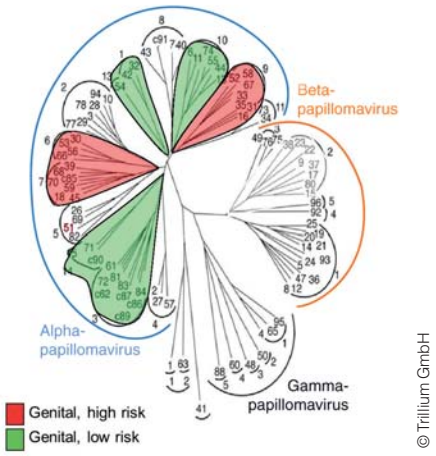
Nachweisverfahren für Humane Papillomaviren

Expertise gefragt

Für den Nachweis von HPV-Hochrisiko-Typen steht eine breite Palette molekularbiologischer Testverfahren mit und ohne Amplifikation der Virus-Nukleinsäuren zur Verfügung. Da je nach Technik unterschiedliche Zielmoleküle erfasst werden, sind die Ergebnisse differenziert zu bewerten.



© Trillium GmbH

Es gibt weit über 100 Typen Humaner Papillomaviren. Ein erhöhtes Risiko für Gebärmutterhalskrebs geht vor allem von den sexuell übertragbaren Viren der Supergruppe Alpha aus.

Infektionen mit Humanen Papilloma-Viren (HPV) im Gebärmutterhals sind sehr häufig, werden aber in ca. 90 Prozent der Fälle innerhalb von zwei Jahren vom Immunsystem erfolgreich bekämpft. Wenn allerdings bestimmte Hochrisiko-Typen (HR-HPV) über einen längeren Zeitraum persistieren, steigt die Wahrscheinlichkeit, dass Vorstufen und invasive Formen des Zervixkarzinoms entstehen.

Voraussetzung für die zuverlässige HPV-DNA-Detektion und -Typisierung ist ein qualitativ hochwertiges Untersuchungsmaterial: Die Probe muss aus der Transformationszone und dem inneren Gebärmutterhals oder einer klinisch sichtbaren Läsion stammen. Zu beachten sind außerdem die Temperatur- und Transportvorschriften, die je nach Auffang- und Transportmedium variieren; deshalb ist es wichtig, die Empfehlungen auf der Packungsbeilage des Transportmediums einzuhalten.

HPV-Typen können mit verschiedenen Tests, die sich im Verfahren, der klinischen Sensitivität und Spezifität sowie in weiteren Qualitätsmerkmalen unterscheiden, differenziert werden. Einige weisen nur bestimmte Zielsequenzen der beiden wichtigsten HR-HPV-Typen 16 und/oder 18, andere das Vorkommen von mindestens 13 HR-HPV-Typen sowie zum Teil auch Viren der Niedrigrisikogruppe nach, und eine dritte Kategorie bestimmt mittels vollständiger Genotypisierung den in der Probe vorkommenden, einzelnen Virustyp.

Allgemein verbreitet in virologischen Laboratorien ist die PCR (*polymerase chain reaction*), wahlweise als Endpunktmethode mit fester Zykluszahl oder kinetisch als quantitative PCR. Erstere sollte zur Vermeidung falsch positiver Befunde nur in spezialisierten Laboratorien durchgeführt werden. Die kinetischen Echtzeitverfahren eignen sich besonders gut zur Automation – gegebenenfalls einschließlich DNA-Extraktion.

Zunehmend etablieren sich als Standardverfahren isotherme Methoden, bei denen nicht die Zielsequenz, sondern das Signal amplifiziert wird. Über eine Bindung von DNA/RNA-Hybriden an immobilisierte Antikörper kann die vorhandene Menge der Virus-DNA zum Beispiel als relatives Lumineszenzsignal gemessen werden. Eine Alternative ist die Signalamplifikation durch Fluoreszenzlicht nach enzymatischer Abspaltung eines signalunterdrückenden Quenchermoleküls.

Isotherme Verfahren werden nicht nur zum Nachweis der Virus-DNA, sondern auch für RNA-Transkripte der Onkogene E6 und E7 eingesetzt. Diese Tests schlagen somit die Brücke vom reinen Virusnachweis zum krebsauslösenden pathobiochemischen Ereignis (siehe nächste Seite).

Abschließend sei noch angemerkt, dass bei In-House-Herstellung von HPV-Tests die Konformität mit den Ansprüchen des Medizinproduktegesetzes dem Hersteller obliegt. Eine Validierung und Akkreditierung ist zwar im Rahmen von Ringversuchen möglich, doch beinhaltet beispielsweise das Panel von INSTAND e. V. nur die HPV-Typen 6, 11, 16 und 18. Es ist somit für eine echte Validierung nicht geeignet, da Tests, die gar nicht in der Lage sind andere HR-HPV-Typen als HPV 16/18 nachzuweisen, den Ringversuch bestehen. In internationalen Ringversuchen haben In-House-PCRs immer schlechter als kommerzielle Verfahren abgeschnitten.

Dinah Lier, Prof. Dr. Thomas Iftner
Univ. Tübingen, Sektion Experimentelle Virologie
thomas.iftner@med.uni-tuebingen.de