

HPV-Typisierung in der Zytopathologie

Statistische Auswertung der HPV-Typisierung – Korrelation mit dem lichtmikroskopischen Screening (PAP-Abstrich)

Lorena, Schnydrig, BMA 17-20B

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Institut für klinische Pathologie und Molekularpathologie, Abteilung für Zytopathologie, Universitätsspital Zürich

1. Zusammenfassung

Da die weit verbreiteten humanen Papillomaviren (HPV) Krebsvorstufen und Gebärmutterhalskrebs auslösen können, ist die Prävention und Diagnostik von HPV ein zentrales Thema. Der Nachweis der Viren erfolgt durch das lichtmikroskopische Screening (PAP-Abstrich) und eventuell nachfolgender HPV-Typisierung mittels Real-time PCR. Anfangs 2016 wurde in der Zytopathologie des USZ die HPV-Typisierung mittels Real-time PCR Gerät eingeführt. Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, eine Qualitätsprüfung der HPV-Typisierung durchzuführen. Es soll aufgezeigt werden, ob diese mit publizierten epidemiologischen Daten, im zeitlichen Verlauf sowie mit den PAP-Abstrichen korreliert. Die Befunde der Patienten und Patientinnen der letzten 4 Jahre, also seit der Einführung der HPV-Typisierung, sowie diejenigen der PAP-Abstriche wurden analysiert. Zudem wurden eigene Messungen vom 01.01. – 03.03.2020 durchgeführt und zu den Auswertungen miteinbezogen und verglichen. Zur Analyse der Häufigkeitsverteilung der 28 nachgewiesenen HPV-Typen (HPV-Typisierung) wurden 2776 Ergebnisse im Bezug zu zwei anderen Ländern (Deutschland und Nigeria) verglichen. Weiter wurde der Verlauf innerhalb eines Quartales pro Jahr analysiert. Für die Analyse der Korrelation der HPV-Typisierung mit den PAP-Abstrichen wurden 2276 Ergebnisse ausgewertet. Die erhaltenen Ergebnisse haben gezeigt, dass die Häufigkeitsverteilung mit Deutschland recht gut übereinstimmt, jedoch mit dem geographisch weiter entfernten Land Nigeria eher weniger. Dies entspricht den Annahmen und ist nachvollziehbar. Des Weiteren war die Häufigkeit einzelner HPV-Typen über mehrere Jahre stabil, was die Korrektheit des Real-time PCR Gerätes untermauert. Zudem hat sich gezeigt, dass die beiden Diagnostikmethoden gut miteinander korrelieren. Trotz dessen gibt es einige nicht korrelierende Fälle, gesamthaft 288 von den 2276 Fällen, was einen Anteil von 12.65% ausmacht. Für diese diskrepanten Fälle wurden plausible Begründungen aufgelistet, die durch einzelne überprüfte Fälle bestätigt werden konnten. Die Qualitätsprüfung der HPV-Diagnostik war erfolgreich und die Diagnostikmethode kann weitergeführt werden. Zudem zeigt die Korrelation mit den PAP-Abstrichen, dass die Diagnosen mittels Lichtmikroskopie grösstenteils korrekt gestellt werden.

2. Einleitung

Die meisten HPV-Infektionen verlaufen asymptomatisch und in den meisten Fällen verschwindet das Virus innerhalb eines gewissen Zeitraums wieder. Verschiedene Hochrisiko-Typen des Virus können vor allem in der Schleimhaut des Genitalbereiches persistieren und dort Krebsvorstufen und Gebärmutterhalskrebs auslösen. Daher ist es wichtig, eine HPV-Infektion und deren ausgelöste Krebsvorstufe frühzeitig zu erkennen, um eine sofortige Therapie einzuleiten und somit die Behandlungschancen zu erhöhen [1]. Die verschiedenen HPV-Typen werden anhand ihres Potentials maligne Dysplasien auszulösen in Niederrisiko HPV-Typen (Low-Risk Typen) und in onkogene Hochrisiko HPV-Typen (High Risk-Typen) eingeteilt [2]. Es wird eine regelmässige Gebärmutterhalskrebsvorsorge empfohlen, um solche präkanzeröse Veränderungen des Gebärmutterhalses rechtzeitig zu erkennen [3]. In der Zytopathologie des USZ werden gynäkologische Abstriche mittels Lichtmikroskopie gescreent (PAP-Abstrich). Vor allem bei auffälligen Befunden wird zusätzlich eine HPV-Typisierung verlangt. Anfangs 2016 wurde die HPV-Typisierung mittels Real-time PCR eingeführt.

Der Nutzen dieser Diplomarbeit ist in erster Linie eine Qualitätsprüfung dieser Diagnostikmethode (HPV-Typisierung) durchzuführen. Es soll aufgezeigt werden, ob diese mit publizierten epidemiologischen Daten, im zeitlichen Verlauf sowie mit den PAP-Abstrichen (Zytobefunden) korreliert. Die Diagnosen des zytologischen Screening mittels Lichtmikroskopie (PAP-Abstrich) werden nach dem Bethesda-System gestellt:

Dysplasie-Typ	Keine Atypie (Normal)	HPV-bedingte Kondylome	Leichte Dysplasie	Mässige Dysplasie	Schwere Dysplasie	Karzinom in situ	Karzinom
Bethesda	NILM		LSIL			HSIL	Karzinom
			ASC-US		ASC-H		



Abb. 2.1 Morphologische Beschreibung der Zellbilder und Dysplasien

3. Ziele und Fragestellungen

Zielsetzung 1:

Vergleich der Häufigkeitsverteilung der HPV-Typen in der Zytopathologie des USZ

- Wie sieht die Häufigkeitsverteilung der HPV-Typen retrospektiv der letzten 4 Jahre aus?
- Korreliert die Häufigkeitsverteilung der HPV-Typen mit publizierten epidemiologischen Daten?

Zielsetzung 2:

Analyse der Korrelation von Befunden der HPV-Typisierung (PCR) und der PAP-Abstriche

- Korrelieren die Ergebnisse der HPV-Typisierung mit denen der PAP-Abstriche?
- Welche möglichen Gründe gibt es für die fehlende Korrelation der beiden Methoden?

Weiter wird nur noch auf die Zielsetzung 2 eingegangen.

4. Methodik und Material

Probenkollektiv für die Korrelation (Zielsetzung 2):

- Durchführung der HPV-Typisierung vom 01. Januar – 03. März 2020 (227 Proben)

Methode der HPV-Typisierung mittels Real-time PCR: Anyplex™ II HPV28 Detection

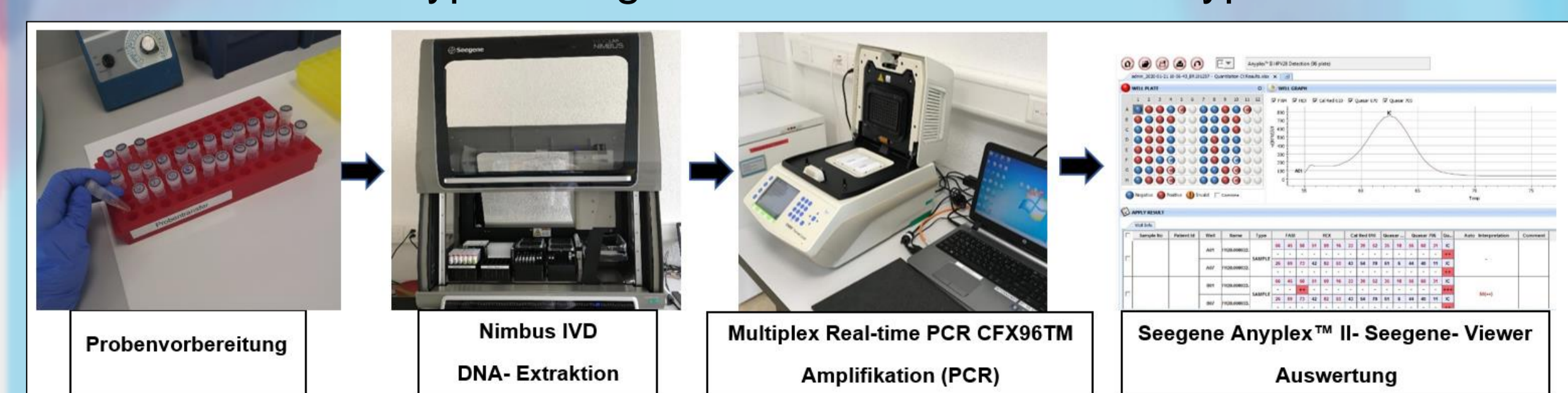


Abb. 4.1 Vorgehen bei der HPV-Typisierung

- Alle Ergebnisse der Proben über den Zeitraum seit Einführung des Real-time PCR Geräts (Anfangs 2016) bis zum 03. März 2020, von denen eine HPV-Typisierung durchgeführt wurde und eine korrelierende zytologische Screening-Diagnose (PAP-Abstrich) vorliegt, wurden zusammengetragen und ausgewertet (2276 Proben).

5. Ergebnisse / Resultate

Die 2276 Resultate der beiden Diagnostikmethoden werden gegeneinander ausgewertet, um zu überprüfen, ob bei den gescreenten PAP-Abstrichen das zu erwartende HPV-Ergebnis bei der Typisierung getestet wurde.

In der Abb. 5.1 wird dargestellt, wie häufig welche Ergebnisse der HPV-Typisierung bei den möglichen Diagnosen der Zytobefunde vorkommen. Unterhalb der Balken sind die Zytobefunde (PAP-Abstriche) aufgelistet und die Balken zeigen jeweils die 4 möglichen HPV-Ergebnisse auf.

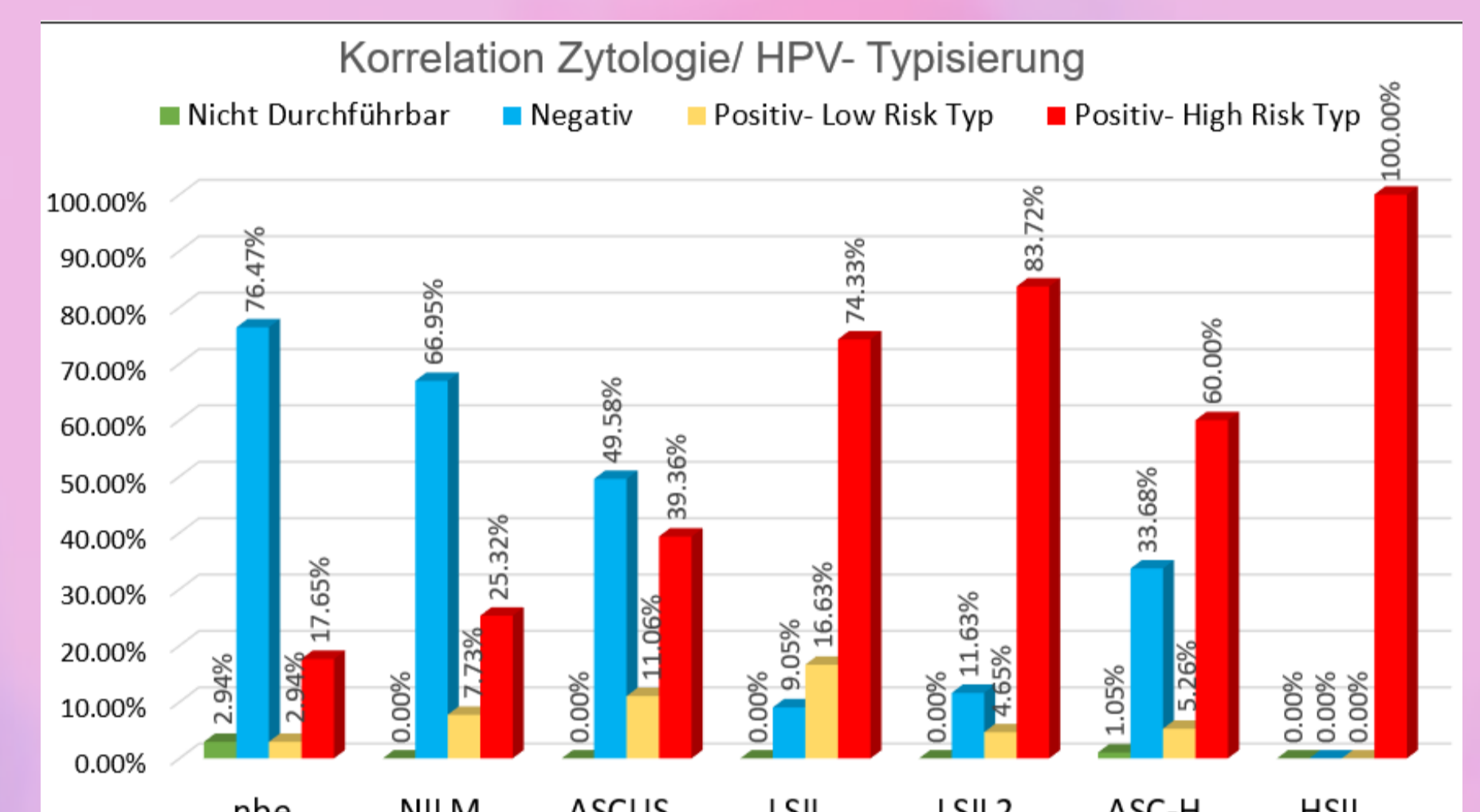


Abb. 5.1 Korrelation HPV-Typisierung – PAP-Abstrich

Die nicht korrelierenden Fälle wurden für die Fragestellung 2 zusammengetragen und ausgewertet. Diese sind in der untenstehenden Tabelle aufgelistet:

Tabelle 5.1 Nicht korrelierende Fälle

	Anzahl nicht korrelierende Fälle	Gesamtanzahl der jeweiligen Zytobefunde	Prozent der nicht korrelierenden Fälle innerhalb der Diagnose
HPVneg/ Zytos (HSIL)	0	91 (HSIL)	0%
HPVneg/ Zytos (LSIL)	37	409 (LSIL)	9.05%
HPVneg/ Zytos (LSIL2)	10	86 (LSIL2)	11.63%
HPVpos (HR-Typ)/ Zytoneg (NILM)	241	944 (NILM)	25.32%
Total diskrepante Fälle	288	Total aller Zytobefunde: 2276	Total diskrepante Fälle: 12.65%

6. Diskussion

Gesamthaft gesehen ist auffallend, dass die Anzahl positiver HPV-Typisierungen mit einem High-Risk Typ (HR-Typ) mit steigendem Dysplasiestadium zunimmt und die der negativen Typisierungen abnimmt (in Abb 5.1 ersichtlich). Diese Tatsache beweist, dass die beiden Methoden eine gute Korrelation aufweisen.

- Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die beiden Methoden gut miteinander korrelieren und grösstenteils im Einklang mit den Annahmen stehen. Bei einzelnen Diagnosen gibt es kleine Prozentsätze von nicht korrelierenden Ergebnissen.
- Zusammenfassend in Bezug zu diesen diskrepanten Fällen ist zu sagen, dass gesamthaft (wie in Tabelle 5.1 ersichtlich) von den 2276 Fällen 288 nicht korrelieren, was einen Anteil von 12.65% ausmacht.

Welche möglichen Gründe gibt es für die fehlende Korrelation der beiden Methoden?

Für die 12.65% nicht korrelierenden Fälle wurden mögliche Gründe für die fehlende Korrelation aufgezeigt und mit zwei Fällen überprüft.

- Somit ist zu sagen, dass es für die nicht korrelierenden Fälle plausible Begründungen gibt, was die beiden überprüften Fälle bestätigen. Um jedoch alle diskrepanten Fälle genau zu begründen und in Zukunft vermeiden zu können, müssten diese Fälle genauer untersucht und Verbesserungsmöglichkeiten ausgearbeitet werden. Da der Umfang dieser Arbeit weitere Überprüfungen von Fällen nicht zulässt, wäre dies ein guter Ausgangspunkt für ein nächstes Projekt.

→ Das Fazit der Arbeit ist, dass eine erfolgreiche Qualitätsprüfung der Diagnostikmethoden durchgeführt werden konnte.

Quellenverzeichnis

- [1] BAG, Bundesamt für Gesundheit. (2020). *Humane Papillomaviren*. Abgerufen am 20.01.2020 von <https://www.bag.admin.ch/bag/de/home/krankheiten/krankheiten-im-ueberblick/hpv.html>
- [2] Fladerer, H., Pokieser, W., & Grimm, C. (2014). *Gynäkologische Zytologie*. (1. Auflage). Wien: Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., 3580 Horn, Wienerstrasse 80.
- [3] Frey, T. B., Petignat, P., Jacot-Guillarmod, M., Mueller, M. D., Fehr, M. & Kind, A. B. (2018). *Gynécologie suisse: Expertenbrief No 50*. Abgerufen am 26.01.2020 von https://www.sggh.ch/fileadmin/user_upload/Formulardaten/akt_50_D_Gebaermutterhalskrebsvorsorge_01.03.18.pdf

Abbildungen

- Abb. 2.1 Morphologische Beschreibung der Zellbilder und Dysplasien (Schnydrig, 2020)
- Abb. 4.1 Vorgehen bei der HPV-Typisierung (Schnydrig, 2020)
- Abb. 5.1 Korrelation HPV-Typisierung – PAP-Abstrich (Schnydrig, 2020)

Tabellen

- Tabelle 2.1 Übersicht der am USZ verwendeten Klassifikation
- Tabelle 5.1 Nicht korrelierende Fälle