

**Durchführung  
des L1 Kapsidnachweises mit  
cytoactiv<sup>®</sup>**

Fortbildungsworkshop für Zytoassistentinnen  
Cytoimmun Diagnostics GmbH  
2009

# Allgemeine Information

- Das L1 Kapsidprotein der Humanen Papillomviren (HPV) ist ein Kernprotein, das nach seiner Synthese im Zytoplasma sehr schnell in den Zellkern transportiert wird.
- Das L1 Protein liegt in der Zelle nicht als Monomer vor, sondern es wird nach seiner Bildung zu Komplexen zusammengelagert. Dies führt dazu, dass einzelne Epitope des Proteins verdeckt (maskiert) sind. Um eine hohe Sensitivität zu erzielen, ist daher eine Antigen-demaskierung erforderlich.
- Generell empfehlen wir zur Antigen-demaskierung die Verwendung eines Dampfgarers oder einer Mikrowelle.

# Probenmaterial

- **Pap gefärbte Präparate** : Deckgläser mit geeignetem Lösungsmittel, z.B. Xylol entfernen.
- **Native Präparate** : in Alkohol fixieren und getrocknet bei Raumtemperatur lagern.
- **Monolayer Präparate** : nach Herstellerangaben anfertigen und bei Raumtemperatur lagern.
- **Histologisches Material** : entparaffinieren.

# Antigendemaskierung

- **Präparate plus eine Positivkontrolle über eine absteigende Alkoholreihe rehydrieren:**

je 2 Minuten in    96%,  
                              70%,  
                              50% Alkohol  
                              Aqua dest.

- **Kochen der Proben in Zitratpuffer:**  
wahlweise  
Dampfgarer-Methode oder Mikrowelle

## Dampfgerer- Methode:

Die Objektträger werden in eine Küvette überführt und vollständig mit Zitratpuffer bedeckt.



Die Küvette wird in den mit kaltem Wasser befüllten Dampfgerer gestellt.

### Rehydratierung der Proben und Antigen - Demaskierung

Wenn Farbkontrast muss eine Positivkontrolle mitgeführt werden um den Erfolg zu kontrollieren. Markieren Sie die Vorderseite des Positivkontroll-Objektträgers mit einem Bleistift um sicher zu stellen, dass die Positivkontrolle bei folgenden Schritten auf der richtigen Seite liegt.

Warten Sie eine Positivkontrolle über eine absteigende Alkoholreihe von 100% bis 50% Alkohol und dann dest.

**Wiederherstellen in der Mikrowelle oder im Dampfgerer**

Warten Sie mindestens 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.

Warten Sie 30 Minuten bei 100°C in der Mikrowelle oder im Dampfgerer.



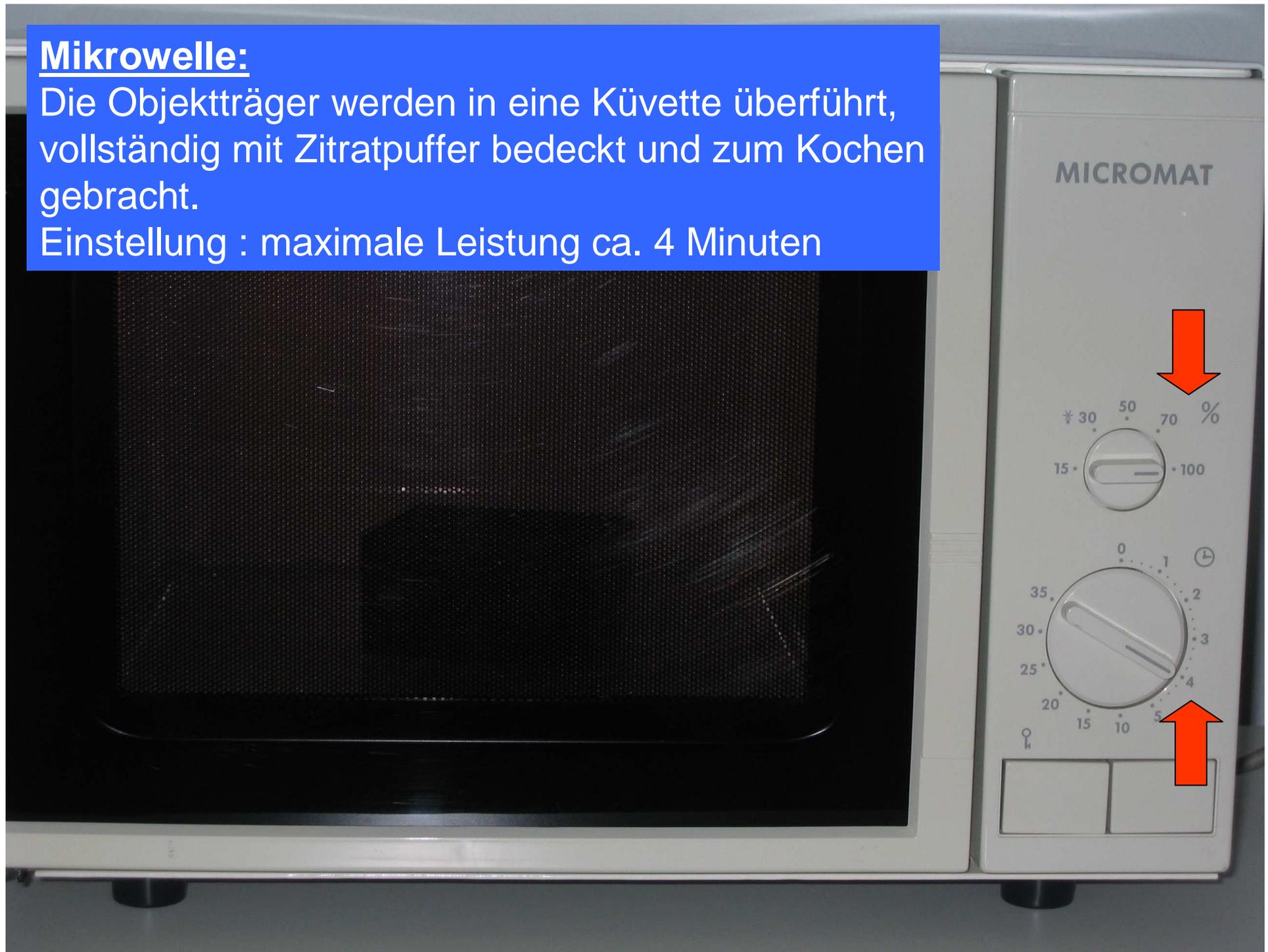
Zeitmesser auf 40 min. einstellen, Präparate werden 30 min. gekocht.

Nach Beendigung des Kochvorgangs  
Proben 10 Minuten abkühlen lassen

## Mikrowelle:

Die Objektträger werden in eine Küvette überführt, vollständig mit Zitratpuffer bedeckt und zum Kochen gebracht.

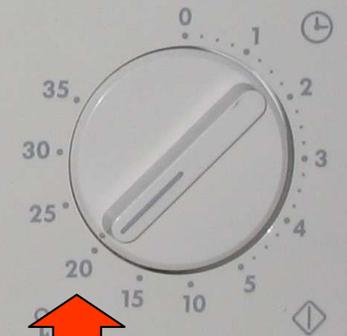
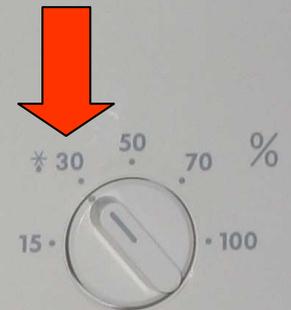
Einstellung : maximale Leistung ca. 4 Minuten



Anschließend 20 Minuten bei 1/3 der Leistung köcheln lassen.

Nach Beendigung des Kochvorgangs Proben in der Mikrowelle 10 Minuten abkühlen lassen

MICROMAT





Die Präparate 1 Minute im Waschpuffer waschen, anschließend herausnehmen und ablegen.

Pro Präparat 1 Tropfen cytoactiv auftropfen,  
mit einem Deckglas bedecken und  
30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.





Die Präparate 1 Minute im Waschpuffer waschen, anschließend herausnehmen und ablegen.

Pro Präparat 1 Tropfen Nachweisreagenz auftropfen,  
mit einem Deckglas bedecken und  
10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.





Die Präparate 1 Minute im Waschpuffer waschen, anschließend herausnehmen und ablegen.

Pro Präparat 1 Tropfen Chromogen auftropfen,  
mit einem Deckglas bedecken und  
5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.



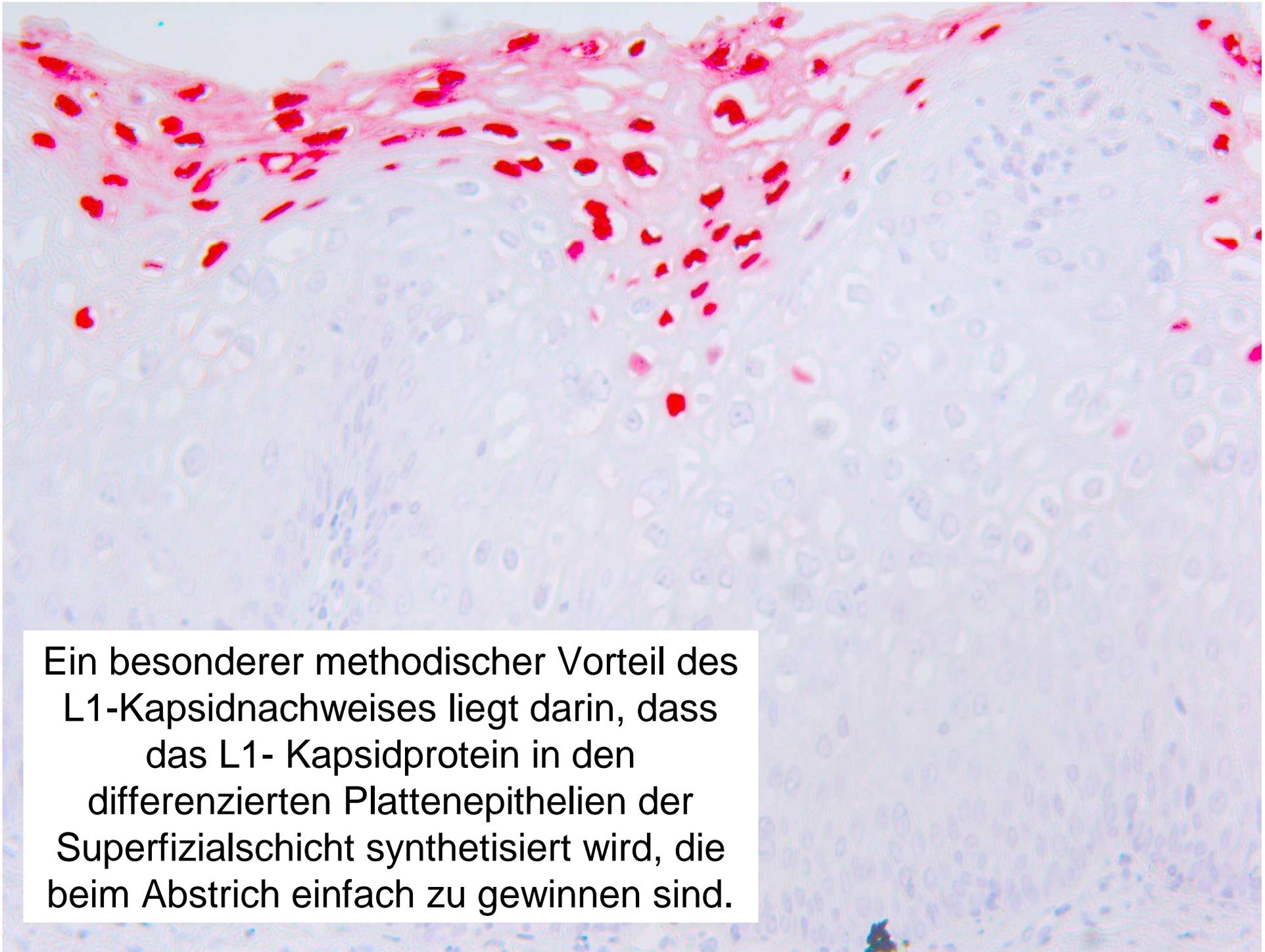


Die Präparate 1 Minute im Aqua dest. waschen,  
kurz in Hämatoxilin färben, bläuen und eindecken.



Das L1 Protein ist im Kern lokalisiert, daher ist nur eine Kernfärbung als spezifisches Signal zu werten.

cytoactiv ermöglicht eine **Ja – Nein – Antwort.** Eine positiv angefärbte Zelle auf dem gesamten Präparat reicht für ein positives Ergebnis aus.



Ein besonderer methodischer Vorteil des L1-Kapsidnachweises liegt darin, dass das L1- Kapsidprotein in den differenzierten Plattenepithelien der Superfizialschicht synthetisiert wird, die beim Abstrich einfach zu gewinnen sind.

Abhängig von der  
Proteinmenge variiert die  
Färbeintensität.



Bei starker Kernfärbung ist eine zytoplasmatische Anfärbung von Ribosomen möglich, die das L1 Protein gerade bilden.



# **Zusammenfassung**

- **Cytoactiv, der prognostische Marker für zervikale Dysplasien.**
- **Cytoactiv, eine einfache, schnelle und sichere Prognose innerhalb von 90 Minuten.**
- **Durchführung in jedem zytologischen Labor ohne aufwendige apparative Hilfsmittel.**

cytoimmun 

Cytoimmun Diagnostics GmbH  
Delaware Avenue 1 – 3  
66953 Pirmasens

[www.cytoimmun.com](http://www.cytoimmun.com)