

* Médecine Générale
1200 Bruxelles

Cytologie cervicale en milieu liquide : intérêt en médecine générale

par le Dr Isabelle Dagneaux*

De nouvelles techniques sont apparues pour l'analyse des frottis cervicaux. Leur facilité de manipulation et la qualité de leurs résultats doivent encourager les médecins généralistes à les utiliser.

PRÉTEST

1. C'est la combinaison cytobrush + spatule qui est le meilleur mode de prélèvement des frottis de col.
2. La technique d'immersion en milieu liquide des frottis de col donne une meilleure détection mais est plus difficile à réaliser.
3. La technique d'immersion en milieu liquide des frottis de col permet l'analyse des lames par ordinateur.

Vrai Faux

☐
☐
☐
☐
☐
☐

Réponses en page 308.

ABSTRACT

The cervical screening can now be realized by new liquid-based and thin-prep cytologic preparations, instead of the usual Papanicolaou. Easy to use, they increase smear quality and cytologic abnormalities detection.

Key Words :

Cervical smear, liquid-based cytology, Thin Prep, cervical cancer.

RÉSUMÉ

Aux côtés de la technique classique de Papanicolaou, sont apparues de nouvelles techniques pour l'analyse des frottis cervicaux, utilisant le milieu liquide et la réalisation de lames en couches minces. Outre leur facilité d'utilisation, celles-ci montrent une plus grande efficacité quant à la qualité des frottis et à la détection des lésions pré-cancéreuses.

Mots clefs :

Frottis cervicaux, milieu liquide, couches minces, cancer du col.

La technique de Papanicolaou est utilisée par les médecins généralistes. Elle présente cependant des limites, liées au prélèvement des cellules, à la réalisation de la lame, et à la lecture des résultats. Il existe actuellement de nouvelles techniques plus performantes, utilisant un milieu liquide fixatif et la réalisation de lames en couches minces par le laboratoire. Leur facilité d'utilisation et la qualité des résultats sont des éléments en faveur de leur utilisation large en médecine générale. Rappelons qu'un frottis cervical doit être prélevé tous les deux ans, si les deux premiers frottis, réalisés à un an d'intervalle, sont négatifs.

TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENT

Faisons tout d'abord le point sur les modes de prélèvement. De nombreuses études se sont penchées sur l'efficacité de différents modes de prélèvement des frottis de col. Elles analysent soit la qualité du frottis (présence de cellules endocervicales ou de jonction), soit le taux de détection d'anomalies cytologiques.

Trois méta-analyses^(1,2,3) ont synthétisé les données existant à ce sujet.

La première, réalisée par Buntinx et Brouwers⁽¹⁾, conclut que les trois techniques suivantes permettent une bonne détection des anomalies cytologiques : utilisation d'une spatule modifiée ou d'une combinaison spatule plus cytobrush ou du Cervex brush.

Une deuxième méta-analyse du même auteur, qui porte sur la présence de cellules endocervicales⁽³⁾ comme critère de qualité des frottis, montre l'efficacité du Cytobrush pour ramener

des cellules endocervicales. Elle ajoute cependant que des cellules malpighiennes manquent quand les frottis sont réalisés uniquement avec le cytobrush. Elle conclut, en combinaison avec la première méta-analyse⁽¹⁾, à une plus grande efficacité de la technique combinée cytobrush + spatule.

Enfin, une troisième méta-analyse parue en 1999 dans le "Lancet"⁽²⁾ considère la présence de cellules endocervicales comme un critère valide pour mesurer la capacité de détection d'anomalies cytologiques. Elle conclut également à la **supériorité de la combinaison cytobrush/spatule pour obtenir un frottis exo- et endocervical.**

Notons qu'aucune de ces études ne tient compte de l'expérience de celui qui fait le prélèvement. C'est un critère plus difficile à quantifier, mais il intervient dans la qualité des frottis, quelle que soit la technique utilisée.

CYTOLOGIE EN COUCHE MINCE ET AUTOMATISATION

Le **désir d'automatiser** l'analyse de prélèvements cytologiques a amené à chercher de nouvelles techniques⁽⁵⁾. **L'automatisation permettrait une analyse des lames beaucoup plus rapide et systématique, et l'utilisation de critères morphométriques standard reproductibles.**

Une lame réalisée selon la technique traditionnelle présente des obstacles à l'analyse par ordinateur : nombreuses superpositions de cellules, couverture par des globules rouges ou des globules blancs, amas de cel-

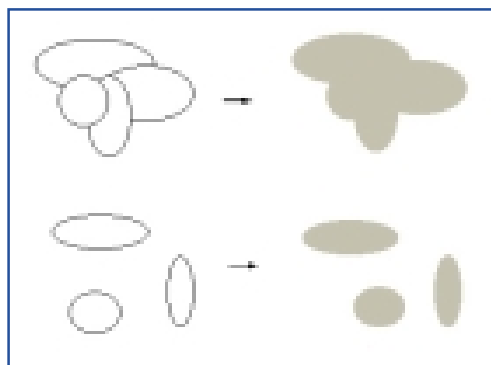


Fig. 1 : L'analyse des cellules est facilitée par leur séparation (repris de Bonfiglio TA, Erozan YS, *Gynecologic cytopathology*, p. 173⁽⁹⁾).

lules, présence de mucus, étalement irrégulier et plus ou moins large sur la lame, ...

Un des problèmes majeurs pour l'ordinateur réside dans le fait de séparer visuellement une cellule (ou un noyau) d'une autre, afin d'en mesurer différentes caractéristiques comme la surface, le périmètre, ... Sans une segmentation des cellules, la tâche de l'ordinateur est trop complexe (voir Fig. 1).

Il faut donc préparer les lames d'une autre façon, non plus directement au moment du prélèvement mais au laboratoire, après transport du prélèvement dans un liquide fixatif. Cela permet d'améliorer la qualité de la lame à analyser et d'éliminer le risque d'artefact dû à une dessiccation du prélèvement.

Le médecin qui fait le prélèvement rince ou plonge l'instrument de prélèvement dans le vial rempli de liquide fixatif et de transport (Fig. 2), qui est envoyé tel quel au laboratoire.

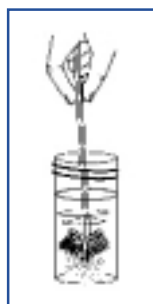


Fig. 2 : Rincage du prélèvement dans le liquide fixatif (repris de Lee KR⁽¹⁰⁾).

Il existe plusieurs types d'appareils permettant la réalisation de lames en couches minces (Cytec Thin Prep 2000 Processor, Roche Cyto-Rich Processor, ...): ils diffèrent par des données techniques et des variantes dans la procédure⁽⁵⁾. Le principe de base consiste en une première étape d'homogénéisation de la solution afin de séparer des groupes de cellules, de liquéfier le mucus tout en préservant les cellules. Ensuite, la solution est soumise soit à une pression négative qui l'entraîne à travers un filtre soit à un procédé de sédimentation. **Les cellules sont ainsi réparties sur la lame de façon homogène, en couche mince et dans un cercle délimité au centre de la lame** (Fig. 3), et les débris sont en bonne partie éliminés.



Fig. 3 : Étalement sur lame. La préparation en couche mince permet une analyse plus aisée grâce à la localisation limitée et la situation dans une zone de visibilité optimale.

Une question s'est posée dès le début de l'utilisation de cette technique, sous le nom de "subsampling": seul un petit nombre de cellules est utilisé pour réaliser les lames et ceci pourrait produire de faux négatifs. Une étude⁽⁴⁾ s'est penchée sur la question et a conclu que les cellules ont été bien mélangées dans la première étape d'homogénéisation et distribuées au hasard. Elles ont ainsi toutes la même probabilité d'être déposées sur la lame ("random subsampling").

EFFICACITÉ DES LAMES EN COUCHE MINCE

Pour répondre à la question de l'efficacité des nouvelles techniques en couche mince, nous avons consulté la littérature existant à ce sujet.

Les études trouvées ont été réalisées selon un des deux protocoles suivants. Dans le protocole en "split-sample", une lame conventionnelle est réalisée et les cellules résiduelles sont immergées dans le liquide fixatif pour réaliser une lame en couche mince. Dans le protocole en "direct-to-vial", toutes les cellules prélevées sont plongées dans le liquide fixatif.

Les études en "split-sample" réalisées par Howell⁽⁹⁾ et al. (petit nombre de cas) et Takahashi et al.⁽¹⁰⁾ concluent à un résultat satisfaisant de la méthode en milieu liquide: les résultats sont équivalents ou légèrement meilleurs que ceux obtenus avec la méthode conventionnelle (d'une diminution de détection de 3%⁽¹⁰⁾ à une augmentation de 35%⁽⁹⁾); ils concluent que la technique en milieu liquide permet une automatisation de l'analyse des lames, d'où son intérêt. Les autres études réalisées en "split-sample" donnent des résultats similaires quant à la détection d'anomalies cytologiques (amélioration de 12 à 28%).

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Austin et al.⁽⁶⁾ dans leur méta-analyse, pour ce qui concerne les études en "split-sample" que nous avons relevées. **Les études réalisées en plongeant directement l'instrument de prélèvement dans le liquide de fixation ("direct-to-vial") donnent, quant à elles, des résultats nettement plus performants: de 88 à 275% d'augmentation de la détection.** En effet, toutes les cellules prélevées sont dans la solution, tandis que dans les études en "split-sample", une bonne partie des cellules restent sur la lame et sont tout à fait absentes du milieu

liquide. Ceci confirme aussi la théorie du “random subsampling” : toutes les cellules de la solution ne sont pas utilisées pour préparer les lames en couches minces, mais l’homogénéisation préalable de la solution permet une distribution des cellules au hasard et la présence de cellules pathologiques sur la lame. Austin et al.⁽⁶⁾ avaient déjà pointé un phénomène similaire en remarquant que les instruments de prélèvement qui adsorbent plus les cellules donnent l’impression d’une efficacité moindre des techniques en milieu liquide. Ainsi, l’utilisation de cotton-swab et de spatules en bois qui délivrent moins bien les cellules lorsqu’ils sont rincés dans la solution diminuent le nombre de cellules disponibles pour l’analyse et le taux de détection d’anomalies cytologiques.

La qualité des frottis est également augmentée par les nouvelles techniques. Plusieurs artéfacts sont en effet évités. **L’immersion directe en milieu liquide diminue le risque de dessèchement du prélèvement.** L’homogénéisation de la solution permet de dissoudre le mucus et de séparer les cellules. La filtration ou la sédimentation permettent d’ôter les débris cellulaires.

On évite ainsi des superpositions cellulaires et des artéfacts qui rendent la lecture de la lame plus difficile voire impossible. Dans les faits, on diminue le taux de protocoles revenus “frottis non satisfaisant” ou “satisfaisant mais limité par...”. Quel que soit le protocole d’étude utilisé, les résultats concordent : ils sont donc bien dus à la technique en milieu liquide et pas au mode de prélèvement.

IMPLICATIONS EN MÉDECINE GÉNÉRALE

Au vu des études relevées dans la littérature, les nouvelles techniques utilisant les couches minces sont susceptibles d’apporter des avantages tant dans la qualité des frottis que dans la détection de lésions pré-cancéreuses.

L’intérêt pour le praticien est triple :

1. **Une facilité au niveau technique :** il suffit de plonger ou de rincer l’instrument de prélèvement dans le vial de liquide fixatif fourni par le laboratoire et de l’y envoyer.
2. **Il y a moins de frottis à recommencer** pour cause de mauvaise qualité.
3. **On augmente le taux de dépistage de lésions précancéreuses,** ce qui permet un traitement plus précoce, donc moins lourd et moins onéreux.

Le choix des instruments de prélèvement doit se faire selon les critères suivants : capacité à toucher la zone de jonction (puisque c’est le lieu où se développent les lésions pré-cancéreuses) et une libération maximale des cellules dans le milieu fixatif et de transport pour qu’elles puissent être analysées (instrument le moins adsor-

bant possible). **En pratique, on favorisera les spatules en plastique, associées ou non à une cytobrush, ou le Cervex Brush.**

En termes d’économie de la santé, il faut noter que l’investissement en nouveau matériel est important pour les laboratoires. Le bénéfice ne pourra être mesuré qu’à long terme, par le temps gagné par le pathologiste dans l’analyse des lames, la réduction du nombre de frottis à recommencer et un moindre coût de traitements plus précoces.

À l’heure actuelle, la technique en couche mince est installée dans plusieurs laboratoires et mise à disposition des médecins qui souhaiteraient l’utiliser.

CONCLUSION

Les techniques en milieu liquide favorisent, d’une part, une meilleure détection des lésions, donc la possibilité d’un traitement plus précoce, et, d’autre part, une meilleure qualité des frottis, il y a donc moins de frottis à devoir recommencer. Ces deux aspects sont en faveur d’une utilisation de ces techniques, par ailleurs d’utilisation aisée pour le praticien. ■

BIBLIOGRAPHIE

1. Buntinx F, Brouwers M : Relation between device and detection of abnormality in cervical smears : a meta-analysis of randomised and quasi-randomised studies. *BMJ* 1996 ; **313** : 1285-90.
2. Martin-Hirsch P, Lilford R, Jarvis G, Kitchener HC : Efficacy of cervical-smear collection devices : a systematic review and meta-analysis. *The Lancet* 1999 ; **354** : 1763-70.
3. Buntinx F, Knottnerus JA, André J, Crebolder HFJM, Essed GGM : The effect of different sampling devices on the presence of endocervical cells in cervical smears. A systematic literature review. *Eur J Cancer Prev* 1994 ; **3** : 23-30.
4. Jones BA, Heard NV : Q Probes : Pap smear rescoring. Data analyse and critique. College of American Pathologists, 1993.
5. Bonfiglio TA, Erozan YS : *New technology in gynecologic cytology : automation in cytology screening and thin-layer preparation techniques* dans : Gynecologic cytopathology. Ed. Lippincott-Raven publishers, Philadelphia, 1997.
6. Austin RM, Ramzy I : Increased detection of epithelial cell abnormalities by liquid-based gynecologic cytology preparations. *Acta Cytol* 1998 ; **42**(1):178-83.
7. Bolick DR, Hellman DJ : Laboratory implementation and efficacy assessment of the ThinPrep cervical cancer screening system. *Acta Cytol* 1998 ; **42**(2):209-13.
8. Papillo JL, Zarka MA, St-John TL : Evaluation of the ThinPrep Pap test in clinical practice. A seven month, 16,314-case experience in northern Vermont. *Acta Cytol* 1998 ; **42** (1): 203-8.
9. Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdidos R, Lowe J : The Autocyte preparation system for gynecologic cytology. *Acta Cytologica* 1998 ; **42** (1): 171-7.
10. Takahashi M, Naito M : Application of the Cytotrich Monolayer preparation system for cervical cytology. *Acta Cytol* 1997 ; **41** (6): 1785-9.
11. Roberts JM, Gurley AM, Thurlow JK, Bowditch R, Lavery CRA : Evaluation of the ThinPrep Pap test as an adjunct to the conventional Pap smear. *Med J Aust* 1997 ; **167**:466-9.
12. Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME, Herreo R, Alfaro M, Bratti MC, Hildesheim A, Lorincz AT, Greenberg MD, Morales J, Schiffman M : Utility of Liquid-based cytology for cervical carcinoma screening - Results of a population-based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. *Cancer* 1999 ; **87** (2): 48-55.
13. Shield PW, Nolan GR, Phillips GE, Cummings MC : Improving cervical cytology screening in a remote, high-risk population. *Med J Aust* 1999 ; **170** : 255-8.
14. Vassilakos P, Griffin S, Megeevand E, Campana A : Cytotrich liquid-based cervical cytologic test : screening results in a routine cytopathology service. *Acta Cytol* 1998 ; **42** (1):198-202.

15. Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL : Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol* 1997; 90 (2): 278-84.

*Texte demandé par la Rédaction.
Reçu en avril 2001.
Corrections reçues en juin 2001.*

RÉPONSES AU PRÉTEST

1. Vrai - 2. Faux - 3. Vrai

DANS LA PRATIQUE, NOUS RETIENDRONS

- C'est la combinaison cytobrush + spatule qui est le meilleur mode de prélèvement des frottis de col.
- L'automatisation de l'analyse de prélèvements cytologiques permet une analyse des lames beaucoup plus rapide et systématique, et l'utilisation de critères morphométriques standards reproductibles.
- Une lame réalisée selon la technique traditionnelle présente des obstacles à l'analyse par ordinateur ; il faut donc préparer les lames d'une autre façon, non plus directement au moment du prélèvement mais au laboratoire, après transport du prélèvement dans un liquide fixatif.
- Les études démontrent que les nouvelles techniques d'immersion directe en milieu liquide augmentent la détection d'anomalies cytologiques et la qualité des frottis ; et cela, quel que soit le mode de prélèvement.
- L'intérêt pour le praticien est triple : facilité technique, moins de frottis à recommencer et augmentation du taux de dépistage de lésions précancéreuses.

La Rédaction