

La cytologie du col utérin en couche mince

Thin-layer cytology of the cervix

C. Bergeron

Laboratoire Pasteur-Cerba, 95066 Cergy-Pontoise Cedex 9, France

couche mince / cytologie / dépistage / typage HPV thin layer / cytology / screening / HPV typing

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer de la femme dans le monde. Il reste la première cause de mortalité dans de nombreux pays en voie de développement. En France, il n'arrive qu'au sixième rang des cancers de la femme avec 3 270 nouveaux cas par an et 1 630 décès [1]. La diminution de l'incidence du cancer du col depuis ces 20 dernières années s'accompagne d'une augmentation de l'incidence des lésions précancéreuses, en particulier de celles du carcinome in situ [1]. Les données sur l'adénocarcinome invasif du col sont plus divergentes; la publication de Weidman montre une stagnation de son incidence depuis 20 ans [1]; par contre, celle de Vizcaino montre une diminution de son incidence, y compris dans la tranche de femmes de moins de 50 ans [2].

Le dépistage par la cytologie est un moyen efficace de diminuer l'incidence du cancer du col de l'utérus. Dans 60 % des cas, les femmes qui développent ce cancer aux États-Unis n'ont pas eu de dépistage ou l'ont eu de manière espacée [3]. Dans 10 % des cas, elles ont eu un frottis mais n'ont pas eu un suivi approprié. Enfin, dans 30 % des cas, elles ont eu un frottis régulier et ont développé une lésion invasive [3]. Il n'existe pas de pourcentages aussi précis en France mais les raisons de développer un cancer invasif sont les mêmes. Le premier objectif pour diminuer l'incidence de ce cancer est donc d'augmenter la couverture de la population. Le deuxième est certainement d'améliorer la sensibilité du frottis.

Les faux négatifs de la cytologie sont dus à des erreurs de lecture ou à un mauvais échantillonnage. Ce mauvais échantillonnage est la conséquence d'un matériel qui ne prélève pas assez de cellules, de cellules qui restent sur le matériel, ou de cellules qui sont mal fixées ou masquées par des éléments inflammatoires et du sang. Les professionnels impliqués dans le dépistage cytologique ont travaillé depuis plusieurs années pour améliorer l'interprétation et la qualité du prélèvement. Le système de Bethesda a insisté sur la qualité du frottis et l'importance d'expliquer au clinicien les raisons qui empêchent l'interprétation correcte du prélèvement [4]. Les frottis considérés comme non satisfaisants correspondent à 1 % de la totalité des frottis de routine [5]. La raison principale qui empêche l'interprétation de ces frottis est la paucicellularité. Les autres raisons sont la présence de sang, l'inflammation ou le défaut de fixation. Les frottis dont l'interprétation est considérée comme "limitée par" le sont pour les mêmes raisons mais aussi en raison de l'absence de cellules endocervicales. Ces frottis dont l'interprétation est limitée par l'absence de cellules endocervicales peuvent représenter jusqu'à 6 à 8 % des frottis de routine [6]. L'absence de cellules endocervicales doit être mentionnée au clinicien. C'est lui qui décide s'il doit refaire le prélèvement en fonction de la situation anatomique de la jonction squamo-cylindrique [7]. Ces cellules endocervicales sont importantes à analyser pour détecter une éventuelle lésion de l'épithélium cylindrique. Elles sont aussi le témoin d'une bonne représentativité d'un prélèvement jonctionnel et elles sont associées à la présence d'une lésion épithéliale, en particulier de haut grade [8].

Techniques disponibles.

Les industriels ont travaillé dans ce contexte pour améliorer la qualité du prélèvement en proposant de mettre les cellules en suspension dans un liquide de conservation. Pour le clinicien, le prélèvement se fait de la même manière que celui du frottis conventionnel en utilisant une brosse qui peut prélever la jonction squamo-cylindrique et l'endocol ou en combinant l'usage d'une spatule et d'une brosse endocervicale. Le matériel prélevé est ensuite immédiatement rincé dans le flacon qui contient un fixatif permettant le transport au laboratoire. Une brosse sécable peut aussi être laissée dans le flacon. Le clinicien n'a plus à prendre en charge l'étalement qui se fait au laboratoire. Actuellement, deux modalités techniques qui utilisent des automates ont été validées par la FDA. L'une procède par filtration et collection des cellules sous vide sur une membrane avec transfert des cellules sur une lame. Il s'agit du procédé ThinPrep® de la Société Cytoc®. L'autre procède par centrifugation et sédimentation à travers un gradient de densité. Il s'agit du procédé CytoRich® de la Société Roche Analyse devenue Tripath® (commercialisé en France par la Société Microm®). La technique Cyteasy® distribuée par la Société SEROA est une technique manuelle de centrifugation et sédimentation qui est surtout utilisée en France. Elle n'utilise pas d'automate et n'a donc pas demandé une validation par la FDA.

L'étalement en couche mince qui résulte de ces techniques élimine une grande partie des cellules inflammatoires, de la nécrose et des hématies, aboutissant à "un nettoyage" de l'étalement. Les cytologistes ont l'habitude de lire des étalements de cellules fixées dans un milieu liquide pour les urines, les séreuses ou les ovaires. Par contre, ils n'ont jusqu'alors eu que l'expérience du frottis conventionnel pour la cytologie du col. L'étalement en couche mince permet d'éviter la plupart des artefacts de superposition du frottis conventionnel mais la dispersion du matériel cellulaire supprime aussi des repères visuels habituels. Elle impose une analyse élément par élément et un apprentissage au moins de six mois pour réajuster les critères morphologiques. Les cellules ne sont pas aplaties sur le support mais déposées et la taille des éléments et les aspects tinctoriaux s'en trouvent modifiés. Les noyaux ne sont plus hyper-chromatiques mais prennent un aspect vésiculaire et les cytoplasmes sont importants pour différencier l'origine cellulaire.

Promesses de cette technologie

Qualité du prélèvement

Les études publiées jusqu'alors montrent que les frottis non interprétables ou limités par la présence d'inflammation et de sang sont statistiquement moins importants avec l'étalement en couche mince qu'avec la méthode conventionnelle [9-15]. L'absence de matériel cellulaire due à un prélèvement de mauvaise qualité reste aussi fréquente en couche mince qu'en frottis conventionnel. La présence de cellules endocervicales a été évaluée de différentes manières. Dans les études où le prélèvement a été divisé en un étalement conventionnel et où le matériel résiduel a été rincé dans le flacon (*split-samples*), les cellules endocervicales sont moins nombreuses dans l'étalement en couche mince [9, 11, 16]. Dans les études où la totalité du prélèvement a été rincé dans le flacon (*direct-to-vial*) et les résultats comparés de manière rétrospective à ceux où l'étalement était fait de manière conventionnelle, l'absence de cellules endocervicales est identique entre les deux méthodes [10, 13, 14].

Performances diagnostiques

Les études publiées comparent le plus souvent la méthode en couche mince et la méthode conventionnelle par étude statistique des anomalies cytologiques constatées. Les premières

études ont comparé les résultats d'un prélèvement partagé entre les deux méthodes (*split-sample*) [9, 11, 15, 16]. La plupart des études actuelles comparent des séries dissociées dans le temps [10, 12-14, 17, 18]. Le *tableau I* présente les pourcentages de lésions intraépithéliales de bas grade, de haut grade et d'atypies mal définies diagnostiqués avec le frottis conventionnel et l'étalement en couche mince dans des études faites avec des prélèvements séparés entre les deux méthodes [9, 11, 15] ou des prélèvements utilisés en totalité pour l'étalement en couche mince [10, 12-14, 17, 18], Le diagnostic de lésion de bas grade est augmenté de manière significative dans toutes les études. Le diagnostic de lésion de haut grade est le plus souvent augmenté mais pas toujours de manière significative. Le diagnostic d'atypie mal définie varie d'une étude à l'autre. Certains auteurs trouvent une augmentation et d'autres une diminution. Ceci semble essentiellement dû à l'apprentissage de lecture en couche mince.

Tableau I. Performance de détection avec le frottis conventionnel et l'étalement en couche mince.

Auteurs	N°	Lésion de bas grade (%)		Lésion de haut grade (%)		Atypie mal définie (%)	
		Conventionnel	Couche mince	Conventionnel	Couche mince	Conventionnel	Couche mince
Lee 1997	4189	5,4	6,9	2,5	2,5	7,7	7,3
Bolick 1998	10694	0,8	2,2	0,3	0,8	2,3	3,0
Corkill 1998	1 583	1,8	4,3	0,8	1,2	3,7	5,1
Dupree 1998	19351	1,0	1,4	0,2	0,3	4,9	4,5
Papillo 1998	16314	0,9	1,6	0,4	0,7	5,7	4,1
Guidos 1999	9583	1,0	3,6	0,3	1,0	2,0	3,4
Hutchinson 1999	8636	3,0	3,4	1,5	1,6	1,8	7,5
Vassilakos 1999	111 358	1,6	2,5	0,4	0,7	3,0	1,7
Weintraub 2000	39864	0,7	2,2	0,3	0,6	1,6	2,7

La difficulté pour interpréter ces études est l'absence de confirmation histologique ou de standard indépendant permettant d'évaluer objectivement les discordances [3]. En effet, un certain nombre de cas sont considérés comme des lésions de haut grade par une méthode et comme normal par l'autre méthode. Ceci implique aussi bien des prélèvements faits avec un étalement en couche mince que ceux faits de manière conventionnelle. Un petit nombre d'études ont comparé leurs résultats à l'histologie [10, 13, 15, 16, 19, 20] (*tableau I*). Ces études ont utilisé le plus souvent l'histologie pour confirmer un résultat positif avec l'une ou l'autre méthode mais n'ont pas de confirmation histologique sur l'ensemble des cas. Ceci ne donne une approche de la sensibilité que sur un petit nombre de cas. L'étude de Hutchinson qui porte sur 8 636 femmes a utilisé une confirmation histologique ou des critères indépendants pour évaluer la cytologie [15]. Cette étude montre une augmentation du diagnostic d'atypie mal définie, de lésion de bas grade et de haut grade par la méthode en couche mince. Ces résultats sont confirmés par l'histologie pour ce qui concerne le diagnostic

de lésion de haut grade. La seule critique qu'on pourrait faire à cette étude est que la cytologie en couche mince et la cytologie conventionnelle n'a pas été lue par les mêmes cytologistes.

Techniques complémentaires

Le prélèvement fait pour un étalement en couche mince permet de faire plusieurs lames et d'avoir donc des lames de réserve ou des lames de collection pour renseignement. Il est également possible de rechercher sur le matériel résiduel l'ADN de papillomavirus humain (HPV). Ce type de recherche peut être intéressant chez les patientes pour lesquelles un diagnostic d'atypie cytologique mal définie est proposé [21, 22].

La cytologie en couche mince a été proposée pour améliorer la qualité de l'étalement cellulaire et donc faciliter la lecture conventionnelle au microscope mais elle a aussi été faite pour permettre une lecture plus efficace par des caméras reliées à un programme sur ordinateur. Ce type de lecture a déjà été testé sur des frottis conventionnels en contrôle de qualité [23] ou en première lecture [24]. Une répartition homogène des cellules en couche mince sur un fond propre permettra certainement d'améliorer l'analyse de ces cellules par l'ordinateur. Les premières études publiées sont prometteuses [25, 26].

Auteurs	N°	Techniques	Sensibilité (%)
Sheets 1995	445	Conventionnel Couche mince (TP)	67 74
Roberts 1997	200	Conventionnel Couche mince (TP)	83 83
Bishop 1998	61	Conventionnel Couche mince (CR)	78 89
Bolick 1998	54 89	Conventionnel Couche mince (TP)	85 95
Papillo 1998	300 231	Conventionnel Couche mince (TP)	72 80
Hutchinson 1999	8636	Conventionnel Couche mince (TP)	78 93

Coût

Le développement de la cytologie en couche mince s'est fait de manière plus importante aux États-Unis qu'en Europe et s'explique principalement pour une question de surcoût. Aux États-Unis, le prix de la cytologie est variable d'un État à l'autre et dépend du prix accepté par les Organisations Médicales de Santé ou HMO (*health medical organisation*). La technique s'est développée de manière plus importante dans les États où les HMO ont accepté la technique et bien sûr en conséquence son prix qui est plus élevé que celui de la cytologie conventionnelle. En effet, quelque soit la technique choisie, il existe un surcoût en investissement par rapport à la technique de Papanicolaou mais aussi en temps de personnel et en consommables, que ce soit en méthode manuelle ou en méthode automatisée ou semi-automatisée.

En Europe, c'est en Suisse qu'elle s'est développée le plus rapidement correspondant maintenant à presque 80 % des prélèvements cytologiques du col. Le mode de remboursement de la cytologie cervicale est très comparable à celui des États-Unis et beaucoup d'assurances privées ont accepté de rembourser le surcoût. Elle s'est aussi paradoxalement plus vite développée dans des pays comme le Portugal ou la Grèce, où il n'existe pas une nomenclature qui codifie le prix de la cytologie et où le prix peut être modifié par le prescripteur ou même par le pathologiste. Dans les pays où le dépistage est organisé comme en Angleterre ou en Hollande, la technique en monocouche reste encore peu diffusée et les industriels sont en négociation avec les pouvoirs publics. En France, cette technique se développe encore de manière limitée, plus facilement dans des cabinets de pathologie qui peuvent appliquer le secteur 2, leur permettant d'assumer le surcoût de la technique.

Conclusion

Cette technique comme l'avait déjà mentionné l' ANAES en 1998 est une innovation technologique qui permet des performances diagnostiques au moins équivalentes à celles du frottis conventionnel, voire supérieures. Dans des structures considérées comme ayant une expertise dans le domaine de la cytologie gynécologique avec le frottis conventionnel, son principal avantage sera la possibilité de faire des techniques complémentaires, en particulier la recherche de l'HPV. Son développement en France dans les années qui viennent sera essentiellement dépendant du surcoût de la technique, qui pour l'instant doit être le plus souvent assumé par la structure.

Références

- 1 Weidmann C, Schaffer P, Hedelin G, Arveux P, Chaplain G, Exbrayat C. L'incidence du cancer du col de l'utérus régresse régulièrement en France. Bull Epid Hebd 1998 ; 5:17-9.
- 2 Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX, Munoz N, Barros-Dios XM, Parkin DM. International trends in the incidence of cervical cancer: I. adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. Int J Cancer 1998; 75:536-45.
- 3 Sawaya GF, Grimes DA. New technologies in cervical cytology screening: a word of caution. Obstet Gynecol 1999 ; 94 Suppl 2 : 307-10.
- 4 The revised Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologie diagnoses: report of the 1991 Bethesda workshop. Act Cytol 1992; 36:273-6.
- 5 Davey DD, Woodhouse S, Styer P, Stastny J, Mody D. Atypical epithelial cells and specimen adequacy. Current laboratory practices of participants in the College of American Pathologists: interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology. Arch Pathol Lab Med 2000 ; 124:203-11.
- 6 Davey DD, Naryshkin S, Nielsen ML, Kline TS. Atypical squamous cells of undetermined significance: interlaboratory comparison and quality assurance monitors. Diagn Cytopathol 1994; 11 : 390-6.
- 7 Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Conduite à tenir diagnostique devant un frottis anormal du col de l'utérus. 1998.

- 8 Martin-Hirsch P, Lilford R, Jarvis G, Kitchener. Efficacy of cervical-smear collection devices: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 1999 ; 354:1763-9.
- 9 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. *Obstet Gynecol* 1997 ; 90:278-84.
- 10 Bolick DR, Hellman DJ. Laboratory implementation and efficacy assessment of the ThinPrep cervical cancer screening system. *Acta Cytol* 1998 ; 42 Suppl 1 :209-13.
- 11 Corkill M, Knapp D, Hutchinson ML Improved accuracy for cervical cytology with the ThinPrep® method and the endocervical brush-spatula collection procedure. *J Lower Tract Genital Disease* 1998; 2:12-6.
- 12 Dupree WB, Suprun HZ, Beckwith DG, Shane JJ, Lucente V. The promise and risk of a new technology: the Lehigh Valley Hospital's experience with liquid-based cervical cytology. *Cancer* 1998 ; 84 : 202-7.
- 13 Papillo JL, Zarka MA, StJohn TK. Evaluation of the ThinPrep® Pap test®; in clinical practice: a seven-month, 16,314-case experience in northern Vermont. *Acta Cytol* 1998 ; 42 :203-8.
- 14 Guides BJ, Selvaggi SM. Use of the ThinPrep® Pap test®; in clinical practice. *Diagn Cytopathol* 1999 ; 20:70-3.
- 15 Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME, Herrero R, Alfaro M, Bratti MC, et al. 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 Cytopathol* 1999 ; 87:48-55.
- 16 Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, et al. Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. *Acta Cytol* 1998 ; 42 Suppl 1:189-97.
- 17 Vassilakos P, Saurel J, Rondez R. Direct-to-vial use of the AutoCyte PREP liquid-based preparation for cervical-vaginal specimens in three European laboratories. *Acta Cytol* 1999 ; 43:65-8.
- 18 Weintraub J. The coming revolution in cervical cytology. *Ref Gynecol Obstet* 1997 ; 5:1-6.
- 19 Sheets EE, Constanttne NM, Dinisco S, Dean Barbara, Cibas ES. Col-poscopically directed biopsies provide a basis for comparing the accuracy of ThinPrep® and Papanicolaou smears. *J Gynecol Tech* 1995; 1:27-34.
- 20 Roberts JM, Thurloe JK, Bowditch RC, Humcevic J, Lavery CRA. Comparison of Thinprep® and Pap smear in relation to prediction of adenocarcinoma in situ. *Acta Cytol* 1999 ; 43:74-80.

- 21 Manos MM, Kinney WK, Hurley LB, Sherman ME, ShiehNgai J, Kur-man RJ, Identifying women with cervical neoplasia: using human *papillomavirus* DNA testing for equivocal Papanicolaou results. JAMA 1999; 281 :1605-10.
- 22 Bergeron C, Jeannel D, Poveda JD, Cassonnet P, Orth G. Human *papillomavirus* testing in women with mild cytologic atypia. Obstet Gynecol 2000 ; 95 Suppl 6:821 - 27.
- 23 Bergeron C, Masseroli M, Ghezi A, Lemarie A, Mango L, Koss LG. Quality control of cervical cytology in high-risk women. PAPNET system compared with manual rescreening. Acta Cytologica 2000 ; 44 Suppl 2:151-7.
- 24 PRISMATIC project management team. Assessment of automated primary screening on PAPNET of cervical smears in the PRISMATIC trial. Lancet 1999 ; 353 :1381-5.
- 25 Takahashi M, Naito M. Application of the CytoRich® monolayer preparation system for cervical cytology. A prelude to automated primary screening. Acta Cytol 1997 ; 41 Suppl 6:1785-9.
- 26 Minge L, Fleming M, VanGeem T, Bishop JW. AutoCyte prep system vs. conventional cervical cytology. Comparison based on 2,156 cases. J Reprod Med 2000 ; 45 Suppl 3:179-84.