

Stellungnahme der ÖGPath und ÖGZ zur Verwendung der Dünnschichtzytologie (Liquid Based Cytology) in der Gynäkologischen Zytologie

Peter Regitnig, Alexander Nader, Constanze Nemes, Sigurd Lax,
Wolfgang Pokieser*, Christa Freibauer**

*Präsident der Österreichischen Gesellschaft für Zytologie

** Präsidentin der Österreichischen Gesellschaft für Klinische Pathologie und Molekularpathologie

März 2020

Vorwort

Die zytologische Untersuchung der Zervix uteri (Pap-Abstrich, Gebärmutterhalsabstrich) hat seit ihrer Einführung in den 1950-er Jahren zu einer deutlichen Senkung der Sterblichkeit des Gebärmutterhalskrebses geführt (laut IARC um bis zu 80%). Diese Methode wurde von Giorgios Papanicolaou in den 1930 und 40-er Jahren entwickelt und beruht auf bereits im 19. Jahrhundert beschriebenen Methoden des Nachweises von Tumorzellen in Flüssigkeiten (Marek, 1985).

Die Krebssterblichkeit am Gebärmutterhalskarzinom konnte dadurch deutlich gesenkt werden (European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening: second edition und Supplement), laut IARC um bis zu 80% (*Cervix Cancer Screening IARC Handbooks of Cancer Prevention Volume 10*, 2005).

Rund die Hälfte aller noch vorkommenden Fälle von Gebärmutterhalskrebs (Zervixkarzinom) weisen eine Nicht-Teilnahme am Screening auf (Regitnig et al., 2007; Coleman and Poznansky, 2006; Abed et al., 2006; Ponka and Dickinson, 2014).

Methoden in der gynäkologischen Zytologie

Für die Herstellung der Gebärmutterhalsabstriche wird seit Jahrzehnten die sogenannte **konventionelle Abstrichtechnik** verwendet. Dabei werden Zellen vom Gebärmutterhals unter Speculumsicht mittels Abstrichinstrument (zumeist Spatel und Bürste oder spezielle Spatel, wie Szalay-Spatel) direkt auf einen Glas-Objektträger aufgetragen (Spatel gestrichen, Bürste gerollt) und unmittelbar danach mittels alkoholischem Fixier-Spray oder in 95% Ethanol-Alkohol fixiert. Diese Abstrichmethode hat zuweilen beträchtliche Nachteile: Bei verzögerter Fixierung und Lufttrocknung des entnommenen Zellmaterials auf dem Objektträger ist die Beurteilbarkeit deutlich eingeschränkt. Außerdem können an der konventionellen Zytologie keine Zusatzuntersuchungen durchgeführt werden.

Seit Mitte der 1990er Jahren gibt es zusätzlich die **flüssigkeitsbasierte Dünnschichtzytologie (Liquid Based Cytology, LBC)**. Bei der Abstrichentnahme werden grob-borstige, aber weiche, Plastikbürsten (z.B. Cervical Broom) verwendet, welche sich zwar schlecht für die direkte Übertragung auf einen Glas-Objektträger eignen, allerdings ideal für die anschließende Auswaschung der gewonnenen Zellen in die Fixierlösung sind. Der Bürstenkopf mit den entnommenen Gebärmutterhalszellen wird direkt in eine Alkohol- oder Formalin-haltige Fixierlösung durch Rühren und Schütteln übertragen. Dadurch sind das Zellmaterial aber auch andere Bestandteile wie Viren und andere Mikroorganismen bestmöglich konserviert.

Im Gegensatz zur konventionellen Zytologie erfordert die LBC im Labor eine zusätzliche Aufarbeitung bei der die Zellen aus der Flüssigkeit auf einen Objektträger übertragen werden. Hierzu gibt es verschiedene Verfahren: Filterbasiert, Dichte-Gradient-basiert, oder seltener in Gebrauch eine direkte Auftragung per Pipette oder Cytofunnel. Dabei sollte auf die Verwendung IVD-zertifizierter Materialien geachtet werden. Nicht unterschätzt werden darf der erhöhte Verarbeitungsaufwand für das medizinisch-technische Personal. Deutliche Unterschiede in der Verarbeitungszeit bestehen zwischen den verschiedenen LBC-Methoden und Herstellern.

Nach Übertragung der Zellen auf den Objektträger werden diese analog zur konventionellen Zytologie nach der Papanicolaou Methode gefärbt und dem zytologischen Screening zugeführt (Practice Bulletin No. 168: Cervical Cancer Screening and Prevention, 2016).

Beide Abstrichmethoden haben das Ziel, sowohl Zellen von der äußeren Oberfläche der Zervix (Ektozervix) als auch aus dem Zervikalkanal (Endozervix) zu gewinnen, um die Transformationszone, in der englischsprachigen Literatur meist als squamo-columnare Junctionszone bezeichnet, zu erfassen. Dieser Bereich ist typischerweise der Entstehungsort der zervikalen Neoplasie.

Studien zur Sensitivität beider Methoden zeigen zum Teil einen geringen Vorteil (Klug et al., 2013) oder keinen Unterschied (Siebers AG, 2009) für die LBC im Vergleich zur konventionellen Zytologie. Eine Änderung des positiven-Vorhersage-Wertes (PPV) wird kontrovers beschrieben (Klug et al., 2013; Ronco et al., 2007; Davey et al., 2006).

Repräsentativität der entnommenen Zellen

Für eine *gute Beurteilbarkeit und Repräsentativität* eines Pap-Abstriches müssen eine entsprechende Anzahl an gut beurteilbaren Plattenepithelzellen und endozervikale Zellen bzw. Zellen aus der Transformationszone vorhanden sein (Nayar and Wilbur, 2015; Regitnig et al., 2012). Die Plattenepithelien dürfen nicht in zu dicken Lagen vorliegen oder durch Blut, Schleim oder entzündliches Exsudat überlagert sein. Ein in qualitativer Hinsicht eingeschränkt beurteilbarer Pap-Abstrich bedeutet eine verminderte Sensitivität für das Auffinden von atypischen oder neoplastischen Zellen und erfordert daher ein zusätzliches Follow-up (Reich et al., 2018).

Vorteile der LBC

Die LBC bietet gegenüber der konventionellen Zytologie Vorteile in folgenden Punkten:

- Sofortige Fixierung des gewonnenen Zellmaterials und dadurch idealer morphologischer Erhaltungszustand
- Die Verarbeitungsmethode erzeugt ein homogenes Probenmaterial mit gleichmäßiger Zellverteilung und Minimierung von dicken Zellschichten oder zellulären Überlagerungen.
- Optimale Zellmenge für die mikroskopische Untersuchung, dadurch keine zellulären Überlagerungen und keine Quetschungsartefakte. Dies erleichtert das konventionelle Screening und ist eine Grundvoraussetzung für ein automatisiertes, Computer-assistiertes Screening (Hoda et al., 2013)
- Vermeidung von Hintergrund bzw. einer Überlagerungen durch Blut und Schleim (Vooijs et al., 1987; Bernstein et al., 2001; Sherman et al., 2006)

Die im Vergleich zur konventionellen Zytologie erhöhte Abstrichqualität führt zu einer Reduktion von Abstrichen mit Qualitätseinschränkungen (Hoda et al., 2013). Wiedereinberufungen der Frauen zur erforderlichen Wiederholung der Entnahme des Abstriches werden entsprechend reduziert (Ronco et al., 2007).

Die Beurteilbarkeit der Präparate erleichtert sich durch die kleinere Fläche, den saubereren Hintergrund, sowie einer geringeren Zellüberlagerung und dadurch besser sichtbaren Einzelzellen (Monolayer), damit ist der Screeningvorgang um 20-60% schneller als die konventionelle Zytologie (Hoda et al., 2013).

Ein ganz wesentlicher Vorteil der Methode liegt in der Durchführbarkeit von Zusatzuntersuchungen direkt aus dem Abstrichmaterial, ohne dass die Patientin neuerlich einberufen und ein weiterer Abstrich entnommen werden muss.

LBC und Zusatzuntersuchungen

Die Durchführung eines **HPV Tests** im Zuge der Abklärung auffälliger Pap-Abstriche oder von Pap-Abstrichen mit eingeschränkter Repräsentativität wird sowohl in Österreich als auch in Deutschland durch entsprechende Empfehlungen der Fachgesellschaften gefordert (Bujan and Klug, 2018; Reich et al., 2018).

Aus einem LBC Gefäß kann nicht nur eine zytologische Untersuchung durchgeführt werden, sondern weitere Untersuchungen, wie ein HPV Nachweis auf molekularpathologischer Basis oder **immunhistochemische Untersuchungen**. Letztere können zur Differenzierung von morphologischen Veränderungen dienen, zum Beispiel bei Pap III (ASC-H) mittels Nachweis von p16^{ink4a} und Ki-67 oder bei Verdacht auf Metastasen oder ungewöhnlichen Malignomen. Ausserdem können verschiedene andere Erreger nachgewiesen werden.

Für ein automatisiertes, Computer-assistiertes Vorscreening bietet die LBC aufgrund optimal erhaltener Morphologie, geringer Zellüberlagerung und Verunreinigung ideale Voraussetzungen. Die Möglichkeit, derartige Assistenzsysteme zu verwenden, hat sich durch die rezenten Entwicklungen in der Bildanalyse durch den Einsatz neuronaler Netzwerke und verbesserter Scan-Methoden der Glas-Objekträger deutlich verbessert.

Limitationen der LBC Methode

Die gegenüber dem konventionellen Abstrich modifizierte Fixierung und Präparation kann zu Änderungen im Zellbild führen, die eine Gewöhnungs- bzw. Trainingsphase erfordern. Dazu gibt es international Erfahrungswerte. Die Architektur der Zellverteilung (endozervikal vs. ektozervikal) beispielsweise ist auf dem LBC-Objekträger nicht vorhanden, Zellgruppen oder kleinere Papillen sind kaum vorhanden, die Zellgröße und Kerngröße ist im Vergleich zur konventionellen Zytologie etwas reduziert. Hintergrundmaterial (zum Beispiel Zelldebris bei malignen Tumoren) kann reduziert sein (Hoda et al., 2013; *Cervix Cancer Screening IARC Handbooks of Cancer Prevention Volume 10*, 2005).

Die LBC ist mit höheren Materialkosten verbunden. Dazu kommt ein erhöhter Aufwand für Lagerung und Entsorgung der Einsendeflässe. Dem erhöhten Aufwand des technischen Personals für die Präparation stehen verkürzte Zeiten beim Vorscreenen gegenüber.

Konklusion

Aufgrund der zahlreichen Vorteile sprechen sich die Österreichische Gesellschaft für Klinische Pathologie und Molekularpathologie und die Österreichische Gesellschaft für Zytologie für die Verwendung der Dünnschichtzytologie (LBC) – unter Berücksichtigung der höheren Gestehungskosten – aus.

Im Besonderen stellen die höhere Qualität der Abstriche und der sinnvolle Konnex zu Zusatzuntersuchungen, wie vor allem die HPV Untersuchung wesentliche Argumente für den primären Einsatz der LBC dar.

Literatur

Abed, Z., O’Leary, M., Hand, K., Flannelly, G., Lenehan, P., Murphy, J., Foley, M., 2006. Cervical screening history in patients with early stage carcinoma of the cervix. *Ir Med J* 99, 140–2.

Bernstein, S.J., Sanchez-Ramos, L., Ndubisi, B., 2001. Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: a metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy. *Am J Obstet Gynecol* 185, 308–17.

Bujan, R.J., Klug, S.J., 2018. [Cervical cancer screening in Germany]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 61, 1528–1535.

Cervix Cancer Screening IARC Handbooks of Cancer Prevention Volume 10. International Agency for Research on Cancer, 2005.

Coleman, D.V., Poznansky, J.J., 2006. Review of cervical smears from 76 women with invasive cervical cancer: cytological findings and medicolegal implications. *Cytopathology* 17, 127–36.

Davey, E., Barratt, A., Irwig, L., Chan, S.F., Macaskill, P., Mannes, P., Saville, A.M., 2006. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. *Lancet* 367, 122–32.

European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening, second edition:
<https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/f6d9b1fb-6404-49f2-a4ae-8763ee8b0c52/language-en/format-PDF/source-search>

European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening, second edition: supplements
<https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/a41a4c40-0626-4556-af5b-2619dd1d5ddc>

Hoda, R.S., Loukeris, K., Abdul-Karim, F.W., 2013. Gynecologic cytology on conventional and liquid-based preparations: a comprehensive review of similarities and differences. *Diagn Cytopathol* 41, 257–78.

Klug, S.J., Neis, K.J., Harlfinger, W., Malter, A., König, J., Spieth, S., Brinkmann-Smetanay, F., Kommos, F., Weyer, V., Ikenberg, H., 2013. A randomized trial comparing conventional cytology to liquid-based cytology and computer assistance. *Int J Cancer* 132, 2849–57.

Marek, J., 1985. [Vilém Dusan Lambl (1824-1895). A contribution to the history of urologic cytology]. *Cas Lek Cesk* 124, 1019–21.

Nayar, R., Wilbur, D.C., 2015. The Pap Test and Bethesda 2014. *Acta Cytologica* 59, 121–132.
<https://doi.org/10.1159/000381842>

Ponka, D., Dickinson, J., 2014. Screening with the Pap test. *CMAJ* 186, 1394.

Practice Bulletin No. 168: Cervical Cancer Screening and Prevention. *Obstet Gynecol* **128**, e111-30 (2016).

Regitnig, P., Dinges, H.P., Ropp, E., Fladerer, H., Moinfar, F., Breitenecker, G., 2007. [Reevaluation of cytological smears in patients with cervical cancer. Regional quality assurance program with the cooperation of the Austrian Society for Cytology, the Carinthian Medical Association and the Carinthian Ministry of Health]. *Pathologie* 28, 339–45.

Regitnig, P., Nader, A., Wiener, H., 2012. [Quality of conventional PAP smears. Quality assessment and motivation for improvement]. *Pathologie* 33, 293–300.

Reich, O., Braune, G., Eppel, W., Fiedler, T., Graf, A., Hefler, L., Joura, E., Kölbl, H., Marth, C., Pokieser, W., Regitnig, P., Reinthaller, A., Tamussino, K., Widschwendter, A., Zeimet, A., Kohlberger, P., 2018. Joint Guideline of the OEGGG, AGO, AGK and ÖGZ on the Diagnosis and Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia and Appropriate Procedures When Cytological Specimens Are Unsatisfactory. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 78, 1232–1244.

Ronco, G., Cuzick, J., Pierotti, P., Cariaggi, M.P., Dalla, P.P., Naldoni, C., Ghiringhello, B., Giorgi-Rossi, P., Minucci, D., Parisio, F., Pojer, A., Schiboni, M.L., Sintoni, C., Zorzi, M., Segnan, N., Confortini, M., 2007. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ* 335, 28.

Sherman, M.E., Carreon, J.D., Schiffman, M., 2006. Performance of cytology and human papillomavirus testing in relation to the menstrual cycle. *Br J Cancer* 94, 1690–6.

Siebers AG, Klinkhamer PJ, Grefte JM, Massuger LF, Vedder JE, Beijers-Broos A, Bulten J, Arbyn M. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial. *JAMA*, 302:1757-1764, 2009

Vooijs, G.P., van, der G.Y., Elias, A.G., 1987. Cellular composition of cervical smears in relation to the day of the menstrual cycle and the method of contraception. Acta Cytol 31, 417-26.