

CELLABVECKAN 2015

Cellabveckan är ett årligt evenemang som i år arrangeras för femte året i rad. De två första dagarna av veckan ägnades åt cytologi. Deltagare från hela Sverige bjöds på intressanta föreläsningar kring aktuella och relevanta ämnen. Tid fanns också till diskussion och utbyte av erfarenheter.

CYTOLOGI MÅNDAG 14/9

Förändringar kan vara framgångsrika när framtidens CD utvecklas som en blommande ROS

Måndagens första föreläsning hölls av överläkare Christina Kåbjörn Gustafsson från Klinisk Patologi och Genetik på Sahlgrenska Universitetssjukhuset. I sitt föredrag berättade hon om den situation som idag råder för yrkesgruppen cytodiagnostiker (CD) och hur hon tror den kommer att se ut framöver i Göteborg.

Idag finns en stor brist på utbildade CD, vilket delvis beror på att det under de senaste åren inte funnits någon utbildning. Yrkeskåren tampas därför med en stor och tung arbetsbörda där ett flertal CD även har nått eller närmar sig pensionsåldern. Att man arbetar kvar till viss del efter att man fyllt 65 år är inte ovanligt berättar Christina. "Arbetsmarknaden för CD är idag god, men tung" berättade Christina.

Huvudarbetet för CD är och har länge varit screening av hälsokontrollerna som tas för att förebygga cervixcancer. Detta kommer dock ändras eftersom antalet prover som analyseras med cytologi kommer att minska när de nya riktlinjerna i nationella vårdprogrammet för cervixcancerprevention träder i kraft. Detta förväntas ske kring år 2016/2017, beroende på hur snabbt landstingen kan få till de förändringar som krävs i organisationen.

Förändringen i riktlinjerna för cervixcancerprevention leder till att många fler prover först kommer analyseras för detektion av HPV förekomst, vilket gör att antalet prov som analyseras med cytologi, som främst används idag, kommer att minska till antalet. Cellprovtagning med analys för primär cytologi kommer fortfarande ske vart tredje år för kvinnor 23-29 år, men för kvinnor 30-49 år kommer istället analys för primär HPV vart tredje år att ske med kompletterande analys för primär cytologi vid 41 års ålder. I åldersgruppen 50-64 kommer provtagning för analys med primärt för HPV genomföras vart sjunde år.



Christina Kåbjörn Gustafsson

Exakt vad dessa förändringar kommer innebära för CD och verksamheten är svårt att förutsäga. Antalet prover som idag screenas av varje CD beräknas dock minska med ca 40 % på Sahlgrenska. Den minskade arbetsbördan kommer leda till att tid frigörs till arbetsuppgifter som idag inte hinns med, men även att personalstyrkan faktiskt räcker till för sin arbetsbörda. Christina poängterar att förändringen troligtvis kommer påverka olika sjukhus på olika sätt och varje arbetsplats behöver fundera på hur man kan ändra sin verksamhet för att möta förändringen. Uppgifter som kvalitetsarbete, metodutveckling, lab-logistik, teknisk support, utbildningsansvar, specialdiagnostik och övrig diagnostik som är viktiga arbetsuppgifter idag inte får glömmas bort när rutinscreeningen minskar. Detta är kostnadsbesparande menar hon, eftersom chansen att få ett bra prov som går att analysera ökar och då behöver prover inte tas om i lika stor utsträckning. Christina diskuterade även molekylära analyser som kanske kan bli en ny arbetsuppgift för CD.

Till hösten 2016 planeras en ny utbildning starta för cytodiagnostiker vid Karolinska Institutet. Ett förslag har arbetats fram, men kursprogrammet är ännu inte beslutat. Det kommer bli en 1-årig högskoleutbildning som kan läggas till BMA-utbildningen berättade Christina. Sammanfattningsvis kan sägas att cytodiagnostikerna står inför en framtid i förändring, där de behöver hitta sin plats på den nya spelplanen. Det är med optimism som Christina blickar framåt.

Primär screening med HPV: vad gör en cytodiagnostiker då?

Dagens andra föreläsning hölls av Nick Dudding från Sheffield Teaching Hospital & East Cytology Training Centre i Storbritannien. Nick återgav en samlad bild över hur förhållandena är för CD i England, men även i andra delar av världen där man kommit olika långt i användandet



Nick Dudding

av HPV som primär analysmetod. Nick berättade att exempelvis Australien har annonserat att de inför primär HPV screening år 2017 och att det i EU idag finns riktlinjer för denna screening. "Att använda sig av HPV screening är synnerligen kostnadsbesparande" menar Nick, vilket är en viktig anledning till att Storbritannien även rör sig mot ett införande. Nick berättar vidare om en rad studier som gjorts kring användandet av primär HPV testning i screeningsammanhang. Bland annat har man tittat på hur arbetsbördan kommer minska för CD och öka för gynekologer i Storbritannien.

Nick belyste även att studier visar att man bör vara medveten om riskerna med HPV tester. Känsligheten (sensitiviteten) för de olika testerna är inte alltid så hög som man kanske skulle vilja och verkar ibland inte fungera så bra för kvinnor som redan har cancer. Nick lyfter även att det idag finns begränsad kunskap kring hur olika företags tester fungerar i klinisk verksamhet.

Storbritannien står inför liknande förändringar för CD som Sverige vid en övergång till primär HPV-testning, berättade Nick. Dock arbetar många CD i Storbritannien enbart med screening och man räknar med att de 100 laboratorier som idag finns i Storbritannien kommer reduceras till ca 10-15 stycken. Detta kommer innebära en stor utmaning för CD i Storbritannien och sammanfattningsvis kan sägas att Sverige har ett bättre utgångsläge för CD, där införandet förhoppningsvis kan innebära en del positivitet för yrkeskåren.

Interaktiv föreläsning: Cancer och cytologi; Vet du vad du tittar på?

Föreläsningen var interaktiv genom att Nick Dudding visade bilder av olika cytologiska preparat som varit svårbedömda och med hjälp av mentometerknappar fick sedan åhörarna rösta på vilken diagnos som borde ställas för de olika proverna. I flera av fallen var det klurigt för deltagarna att ställa rätt diagnos, så Nick fick förklara och visa vad man ska titta efter: "inspektera grupper av celler, hur ser de ut?", "finns det kärn närvarande?", "finns det en blandning av stora och små kärnor?", "ser ni cellreparation?". Bland annat förklarade Nick att cellreparation oftast sker i grupp och att reparerande celler inte ligger ensamma, "det är inte normalt". Nicks avslutande huvudbudskap var: "har du ett svårtolkat preparat, titta långsammare och förstora – titta inte snabbare!".

Utveckling av en automatiserad process som kombinerar cytologi och alikvotering

Nästa föreläsning hölls av Eric Peltier, från NOVACYT i Frankrike. Eric beskrev en ny metod för vätskebaserad cytologi. Eric började berätta om valet av verktyg för insamlandet av celler. Att exempelvis använda traditionella

spatlar innebär att en stor del av de insamlade cellerna sitter kvar på spateln då cellerna ska extraheras. Att istället använda till exempel en borste som direkt skrapas mot ett nät i ett insamlingskärl och som även sparas i kärlet gör att en större mängd celler finns att tillgå, förklarade Eric. Eric lyfte även problematiken kring kontamination av prover och risken för spridning av exempelvis HPV i labbmiljön om öppna behållare används. I det system som Eric varit med att utveckla, NovaPrep, används stängda behållare där detta inte utgör ett problem. Eric visar hur man med hjälp av sedimentation i behållarna kan separera celler så att man tittar på de celler som är av intresse och på så sätt får ett mer specifikt prov och minskar risken för falskt negativa resultat.



Eric Peltier

Instrumentet kan användas för att både förbereda glas för cytologi och molekylärbioologiska tester, vilket gör att det skapas en länk mellan de två olika analysmetoderna i samma system. Instrumentet kan pipettera provmaterial till rör för HPV test, en annan möjlighet är en plattform för biobanking avslutar Eric.

Ny terminologi för skivepiteldysplasi i cervix uteri?

Dagens sista föreläsning gavs av överläkare Anna Måsbäck från Klinisk Patologi vid Lunds universitet. Anna inledde med att ge en gedigen beskrivning av HPV. Hon berättade att HPV oftast ses hos unga kvinnor och att infektionen oftast är utan symptom. Cirka 70 % av infektionerna läker ut inom ett år och 90 % inom 2 år. Nyligen publicerades en studie som visade att högrisk HPV nästan alltid krävs som ett steg i utvecklingen av cervix dysplasi och skivepitelcancer, berättade Anna. Det vaccinationsprogram som införts i Sverige och flera andra länder är mot högrisk typerna 16 och 18 samt lågrisk typerna 6 och 11 som kan orsaka kondylom. Vaccination ger mycket god effekt och i exempelvis Australien har man redan 4 år efter införandet kunnat se att förekomsten av kondylom minskat hos kvinnor under 21 år.



Anna Måsbäck

Anna berättade vidare om LAST-projektet, som är den mest genomgripande utvärderingen som gjorts kring anogenital cancer. I projektet har man noga och systematiskt gått igenom de artiklar som finns inom området. Slutsatsen av utvärderingen är att terminologin för pre-invasiva skivepitelförändringar som orsakas av HPV bör vara tvågradig (LSIL/lågrisk och HSIL/högrisk). Anna förklarade att varken HPV biologin eller biomarkörer stödjer ett tregradigt system som används nu. Utvärderingen har publicerats och antagits av WHO's expertgrupp.

Avslutningsvis berättade Anna att parallellt med LAST-utvärderingen har det utvecklats immunfärgning mot p16 som är positiv i vävnad med högrisk HPV och stödjer diagnosen högriskig dysplasi. Denna metod kan vara bra vid tveksamheter i diagnostisering, avslutade Anna.



CYTOLOGI TISDAG 15/9

Allmän cytologi: dåtid, nutid och framtid

Tisdagen inleddes med att Arrigo Capitanio från Universitetssjukhuset i Linköping tog oss med på en resa tillbaka till Galileos dagar och berättade om cytologins ursprung och utveckling.

Redan 1665 visade Robert Hooke hur man kunde titta på tunna sektioner av kork med förstoringsglas och så tidigt som 1842 kunde forskaren Rigoni-Stern genom epidemiologiska studier dra slutsatser kring cancer hos kvinnor, berättade Arrigo. Han såg bland annat att nunnor i större utsträckning drabbades av bröstcancer än kvinnor med barn och i mindre utsträckning av livmodercancer än kvinnor som var gifta. Arrigo berättade även om den tidiga cellteorin som slog fast att "alla plantor och alla levande organismer utgörs av celler och att varje cell har sitt ursprung från en annan cell", något som inte alls var självklart i slutet av 1800-talet. Arrigo visade tidiga bilder av celler ritade utifrån observationer gjorda från tumörer. "Redan på dessa bilder ses den typiska morfologin som vi tittar efter idag" berättade Arrigo. I början av 1900-talet bromsades dock utvecklingen upp då man ansåg att det inte fanns något hos maligna celler som avslöjade att de var maligna.



Arrigo Capitanio

Arrigo berättade även om hur finnålsaspirations (FNA) cytologin utvecklades och att man funnit mycket gamla beskrivningar av metoden, men att den sanna födelsen kom 1927 i och med Leonard Stanley Dudgeons publikation som fastslog en snabb metod för mikroskopisk

diagnos av tumörer. James Ewing, en mycket framgångsrik professor i USA varnade dock för att ta biopsier på detta sätt då han ansåg att risken var stor för spridning av tumören. Martin Heyes vägrade dock operera utan en säker diagnos och utvecklade aspiration av tumörvävnad med grova nålar, vilket användes så sent som för 25 år sedan. Utvecklingen av FNA cytologin skedde även parallellt i Europa och där fick en grupp vid Karolinska Institutet stor betydelse. Bland annat blev Torsten Löwhagen en betydelsefull person som utbildade många läkare inom aspiration. Metoden förfinades med åren till vad den är idag.



Arrigo förklarade vidare att det var George Papanicolau som i början av 40-talet publicerade artiklar som beskriver cytologin vid cervix och endometrie-cancer, starten på den så kallade "Pap-test eran". Egentligen borde vi kanske säga att den började 15 år tidigare då liknande resultat publicerades. Dock fick denna artikel liten spridning då den publicerades på rumänska och franska.

Sammanfattningsvis slog Arrigo fast att både cytologi och patologi tillhör grundläggande vetenskaper. Cytologi är lättillgängligt, billigt, trovärdigt och minimalt invasiv, men den är svår att lära sig hantera. Mycket träning, duktiga lärare, kvalificerade center och hårt arbete ligger bakom god användning av cytologi. Cytologin är under utveckling menar Arrigo: "Vi går mer och mer från morfologi till immunohistokemi till molekylär biologi. Vi står inför en lovande framtid om vi möter cytologins utmaningar på rätt sätt – genom utbildning!".

Cellblock – state of the art lecture

Henryk Domanski från Lunds universitet inledde sin föreläsning med att beskriva den skepsis som till viss del finns mot cytologi idag. En del menar att man inte kan få lika bra resultat som när man har vävnadsprover inom histologin. Henryk förklarade att om man jämför cytologiska prover mot vävnadsprover är prepareringen och färgningen inte standardiserad inom cytologin. Avsaknaden av vävnadsarkitektur inom cytologin är även en nackdel och även kompletterande immunocytochemiska metoder saknar standardisering inom cytologin.

Henryk visade sedan skillnaden i hur immunocytochemisk färgning kan variera beroende på vilken prepareringsmetod som används för det cytologiska provet. Han visade tydligt skillnaden mellan färgningar av direktutstryk och cellblock, där cellerna bäddas in, snittas och sedan färgas. I cellblock-metoden kan ibland arkitekturen av undersökt vävnad studeras. Cellblock ger flera snitt av samma kvalité som kan användas för standardiserade immunohistokemiska färgningar och molekylära analyser. Henryk illustrerade genom en rad bilder från olika fall hur mycket lättare han tycker det är att ställa diagnos via cellblock.



Henryk Domanski

Henryk berättade sedan att han har stor erfarenhet av att använda olika metoder för att förbereda cellblock, främst av Shandon cytoblock kit och det automatiserade Cellient systemet. Cellblock som metod har naturligtvis för- och nackdelar, säger Henryk. Kostnaderna för att göra cellblock är högre än alternativen, i vissa fall kan diagnostiden förlängas och cellmorfologin blir inte alltid bra. Henryk gick sedan i detalj igenom de olika metoderna och skillnaderna mellan dessa. Fördelen med Cellient är att provet blir standardiserat och att samma prov kan användas för både vätskebaserad cytologi och cellblock. Nackdelen är priset, att endast ett cellblock kan göras åt gången och att fixeringen är baserad på metanol. Shandon cytoblock kit är en mer manuell metod som inte är

standardiserad på samma sätt men är i sin tur billigare och flera cellblock kan förberedas samtidigt. Avslutningsvis visade Henryk resultat från några av cellblocks olika användningsområden: exfoliativ cytologi, kroppsvätskor och aspirationscytologi.

Erfarenheter av att använda ISET-tekniken vid solida tumörer

"Det sker just nu en förändring i våra labb" inledde Paul Hofman sin föreläsning. Paul arbetar vanligtvis vid laboratoriet för Klinisk och Experimentell Patologi vid Universitetet i Nice, Frankrike. Hans uttalande syftar på att vi går allt mer från klinisk och kirurgisk patologi till biopatologi och molekylär patologi. Metoder som FISH, RT-PCR med flera används allt mer.



Paul och Véronique Hofman

Solida tumörer kräver ofta att invasiva metoder används för diagnostisering. Att ha möjligheten att välja icke-invasiva metoder är attraktivt, berättade Paul. Konceptet "vätskebiopsier" i form av blodprover kan kännas långt från den konventionella patologin. Att undersöka om cirkulerande tumörceller finns i blodet eller om fritt cirkulerande DNA från tumörceller kan detekteras är inte omöjligt. Men vi behöver fråga oss om detta kan användas kliniskt, säger Paul. Tekniken verkar lovande, men vi har en bit kvar bland annat vad det gäller sensitivitet och specificitet. Det finns flera utmaningar för detektion, men ett 40-tal olika metoder finns idag att tillgå. En av dessa är ISET-tekniken där venöst blod filtreras genom ett filter, som sedan färgas in och cirkulerande celler kan därefter studeras både cytologiskt och molekylärbiologiskt. Paul visade bilder framtagna med tekniken och förklarar att det finns en rad kriterier som man bör utgå ifrån när man fastställer om cellen man tittar på är malign. Flera studier har gjorts där resultat från tumörbiopsier jämförts med celler man funnit i blod med bra korrelation. Paul berättade vidare att man sett en sämre prognos för de patienter där man kunnat detektera cirkulerande tumörceller i blodet. I en nyligen publicerad studie där blod från röka-

re med KOL undersöktes kunde cirkulerande tumörceller detekteras flera år innan någon tumör kunde ses på skikt-röntgen. Kanske skulle metoden kunna användas för screening av lungcancer hos högriskgrupper, vid risk för årtlig bröstcancer och coloncancer, avslutade Paul.

Framtiden för Cytodiagnostiker, förscreening av biopsier?

Cytodiagnostiker Annie Domanski höll nästa föredrag. Hon gav oss en ingående beskrivning av hur verksamheten och arbetet för CD ser ut i Lund. Där har en centralisering av verksamheten skett i flera steg. Verksamheten i Malmö och Kristianstad har slagits samman med Lunds och i år är 18 cytodiagnostiker anställda. De ansvarar för screening inom en rad olika områden, exempelvis vaginal smear (VS), lungcytologi, urincytologi, buksköljvätskor, gallcytologi, insända punktioner, cervixpatologi m.m. Annie menar att dagens CD måste vara "multiskilled" för att kunna möta dagens och framtiden behov inom vården.



Annie Domanski

Annie berättade att verksamheten i Lund redan för 10 år sedan började med att en gång i månaden ha sessioner med visningar där VS jämfördes mot biopsier. Sedan 2012 har CD fått preparat av BMA på kvällen, screena preparaten och angivit trolig diagnos, som sedan diskuterats med ansvarig patolog. Sedan 2013 är fem CD involveras i detta arbete. Varannan månad går de tillsammans igenom felbedömda fall med gynnsvarig patolog för att öka kunskapen hos CD.

Gör vi någon nytta när vi cytodiagnostiker förscreenar, frågade sig Annie. Ja, för patologen gör vi det var hennes svar. Vi markerar förändringar vi ser i preparatet, vilket leder till vinst i tid då patologen ska titta. Det förhindrar även förbiseende av förändringar och kanske blir bedömningen mer noggrann. Vi CD vill ju att våra diagnoser ska stämma, säger Annie. Annie visade sedan en rad fall där

CD varit involverade i diagnostiseringsprocessen. Detta kan vara framtiden för CD, trots viss skepsis från en del patologer. Samarbetet har givit ett bra arbetsklimat i Lund där patologer och CD möts, vilket varit gynnsamt för patienterna, avslutade Annie.

Diskussion modererad av Annie Domanski

Dagen avslutades med en mycket intressant diskussion. Deltagarna delades in i grupper och fick möjligheten att välja några frågeställningar att diskutera och sedan presentera för de andra deltagarna. Diskussionerna i de olika grupperna var intensiva och när varje grupp sedan skulle presentera vad de diskuterat så visade det sig att många valt att diskutera den nya CD utbildningen. Det togs upp att den borde vara 2-årig för att kunna rymma mer av det som CD behöver kunna idag.



Det vore även bra om utbildningen var uppdelad i två block där man i första blocket fokuserade på morfologi och sedan arbetar ett tag som CD innan man går in på nästa block som fokusera på patologi och molekylära metoder. Vikten av att lärare närvarar under morfologiutbildningen togs även upp då många är i behov av stöd under upplärningsfasen. Att patologi kopplas samman med cytologi anses vara viktigt för förståelsen för var cellerna kommer ifrån.