

Travail de maîtrise

Evaluation de la prise en charge des femmes de plus de 30 ans avec un diagnostic de L-SIL du col de l'utérus en vigueur depuis 2009 au CHUV

Hélène Delorme

Faculté de Biologie et Médecine de Lausanne

Sous la direction du Docteur Chahin Achtari, MER
Service de Gynécologie, CHUV

Avec la collaboration du Docteur Roland Sahli
Institut de Microbiologie, CHUV

ainsi que

de la Dresse M.Fiche et la Dresse A. Mihaescu,
Institut de Pathologie, CHUV

Traduction du titre en anglais :

Evaluation of the clinical management of women aged more than 30 years with a diagnostic of L-SIL in force since 2009 at the CHUV of Lausanne

1. RESUMÉ

Introduction :

Les lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL) sont un diagnostic rencontré fréquemment lors des frottis de dépistage du cancer du col utérin. Leur prise en charge reste controversée. Au CHUV, avant 2009, un test HPV était effectué chez toutes les femmes avec un diagnostic de L-SIL et seules les patientes avec un test HPV positif pour les hauts risques (HR) étaient adressées en colposcopie. Actuellement, suivant les guidelines européennes de 2006, l'attitude est de faire une colposcopie à toutes les patientes avec un diagnostic initial de L-SIL, sans faire préalablement un test HPV. Cette démarche semble efficiente chez les jeunes patientes, mais pas chez les plus de 30 ans chez qui la prévalence de tests HPV HR positifs est inférieure. Plus de 40% des femmes de plus de 30 ans seraient référées inutilement en colposcopie car elles ne seraient pas infectées par un HPV HR et n'auraient pas de risque d'évolution de leur L-SIL vers une lésion de haut grade.

Buts :

Comparer les deux différentes prises en charge des femmes de plus de 30 ans présentant un diagnostic de L-SIL, soit celle qui était en vigueur au CHUV avant 2009 et la prise en charge actuelle. Etudier le rôle et l'utilité du test HPV et de la colposcopie dans le suivi de ces femmes.

Méthode :

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique. Nous avons étudié le dossier de toutes les femmes de plus de 30 ans ayant eu une cytologie avec un diagnostic initial de L-SIL du col de l'utérus au CHUV entre le 01.01.09 et le 31.12.10, soit 61 patientes.

Résultats :

Parmi les 61 femmes incluses dans notre étude 60 ont eu un test HPV effectué lors du diagnostic de L-SIL, dont seuls 29 (48,33%) étaient positifs pour les hauts risques. Comparé aux femmes avec test HPV négatif pour HR, les femmes positives pour HPV HR ont eu un taux inférieur d'évolution spontanément résolutive de leur lésion et un taux supérieur de conisation ou vaporisation du col. Cinq des femmes incluses dans l'étude ont eu une évolution de leurs lésions vers une pathologie plus avancée, dont 4 vers un CIN2 et 1 vers un CIN3. Ces cinq cas étaient positifs pour HPV HR.

Conclusion :

Les nouvelles guidelines en vigueur au CHUV concernant la prise en charge des femmes avec diagnostic de L-SIL n'étaient pas encore appliquées en 2010, en effet le test HPV a été effectué chez presque la totalité de ces patientes. Ces nouvelles guidelines ne semblent pas être applicables aux femmes de plus de 30 ans, chez qui la prévalence du HPV HR est inférieure, et qui risquent alors de subir des examens complémentaires invasifs, sans qu'il y ait de réel bénéfice sur le pronostic de leur pathologie.

2. MOTS CLÉS

L-SIL, dépistage, Test HPV, plus de 30 ans

3.INTRODUCTION

Chaque année en Suisse, 350 nouveaux cas de cancer du col de l'utérus sont diagnostiqués et 100 décès sont dus à cette pathologie (1). L'étiologie de cette tumeur est liée à la persistance de l'infection par le virus du papillome humain (HPV), qui est sexuellement transmissible. Ce virus induit des transformations de l'épithélium de transition du col de l'utérus, initialement bénignes mais qui peuvent évoluer dans un continuum vers des lésions de grade supérieur et finalement vers des lésions invasives.

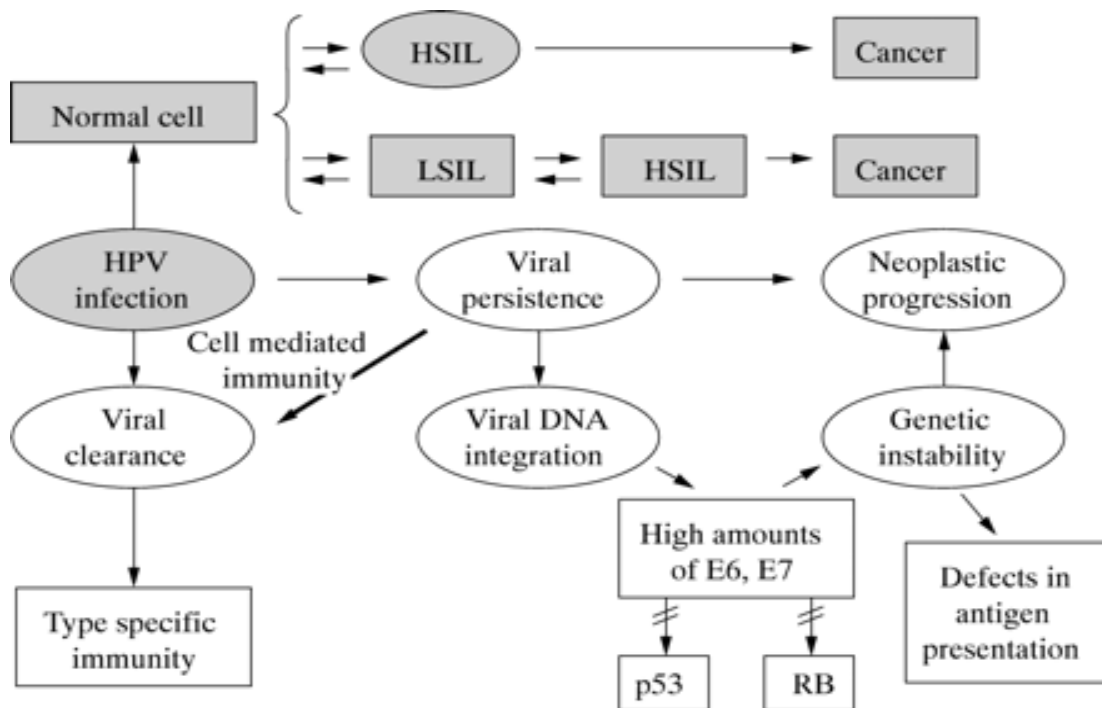
Cette tumeur gynécologique est dans la majorité des cas asymptomatique dans les stades précoces. De ce fait, le meilleur moyen de prévenir l'apparition et l'évolution des lésions de haut grade est de recourir à un dépistage par cytologie, souvent associé à un test HPV. L'examen cytologique permet le diagnostic des lésions pré-invasives, qui sont classifiées à l'aide du système Bethesda 2001 (tableau 1). En suisse romande, ce dépistage est actuellement conseillé chez toutes les femmes à partir de 21 ans, selon les recommandations du Groupement Romand de la Société Suisse de Gynécologie et Obstétrique (2). Il permet d'instaurer un traitement précoce et a déjà largement contribué à la diminution de l'incidence du cancer du col de l'utérus dans les pays occidentaux.

3.1 Rappel de la carcinogénèse du HPV

Le virus du papillome humain est extrêmement prévalent dans la population générale, en effet, selon l'office fédérale de la santé publique suisse, 70% à 80% de la population sexuellement active sera infecté par le HPV au cours de sa vie (3). Le HPV est doté d'un tropisme pour les épithéliums malpighiens et induit un effet cytopathogène spécifique sur les kératinocytes, les cellules basales de la zone de transformation du col de l'utérus. Il se réplique au niveau de leur noyau et les transforme en koïlocytes. Ceux-ci sont caractérisés par un noyau de taille augmentée et hyperchromatique, ainsi que par un halo péri-nucléaire. D'un point de vue histologique, les koïlocytes représentent ce qu'on nomme une « lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade » (LSIL), selon le Système de Bethesda. Ces anomalies régressent le plus souvent spontanément, dans 60% des cas (4). Cependant, 10 à 15% d'entre elles évoluent vers une lésion de plus haut grade et 35% persistent (4). Les lésions de haut grade correspondent à des anomalies plus

marquées du noyau des cellules infectées de l'épithélium malpighien et sont appelées H-SIL (lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade) (figure1). Ces lésions sont également précancéreuses, mais avec un potentiel évolutif plus grand que les lésions L-SIL. Le stade de cancer est atteint lorsque les cellules malpighiennes anormales ont acquis la capacité d'envahir le stroma situé sous les couches basales de l'épithélium. Les mécanismes de carcinogénèse se font via l'intégration de l'ADN viral au génome de la cellule épithéliale, ce qui entraîne la surexpression des oncoprotéines E6 et E7. Celles-ci ont pour effet d'inhiber les protéines suppresseurs de tumeur p105 RB et p53.

Figure 1 : mécanismes de carcinogénèse du HPV



F X Bosch, A Lorincz, N Muñoz, C J L M Meijer, K V Shah, Journal of Clinical pathology, The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer, **55**:244-265

Il faut préciser qu'il existe plus de 100 génotypes différents de HPV et que tous ne sont pas oncogènes. Ainsi seuls les HPV appelés « hauts risques » (HR) peuvent induire une carcinogénèse, car ils sont les seuls à avoir la capacité d'intégrer leur ADN viral dans l'ADN de la cellule hôte (5). La liste des HPV HR sera détaillée dans la partie méthodologie de ce travail.

En présence de lésions typiques au niveau des cellules du col de l'utérus, un test

HPV est réalisable pour détecter la présence du virus et en déterminer le génotype. Selon que le génotype correspond à un HPV haut risque ou non, le risque de lésion sévère sous-jacente peut être évalué par le test HPV. Un HPV HR persistant représente un risque plus élevé d'évolution vers une lésion maligne qu'une infection par un HPV HR non persistant. Le risque de malignité est très faible si le test HPV montre un HPV bas risque ou s'il est négatif. Ce test est donc usuellement effectué conjointement au frottis de dépistage, pour orienter le thérapeute dans sa prise en charge.

3.2 Dépistage du cancer du col de l'utérus

Le dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus se fait par frottis, qui permet l'analyse morphologique au microscope des cellules prélevées. La terminologie (tableau 1) des anomalies cytologiques est la même quel que soit le type de frottis utilisé, et a été uniformisée grâce au système Bethesda 2001 (6).

Tableau 1 : Classification des anomalies des cellules malpighiennes selon le système Bethesda

| |
|--|
| <p>-Atypies des cellules malpighiennes (ASC) -De signification indéterminée (ASC-US) -Ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade (ASC-H)</p> <p>-Lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL – LMIEBG) -(regroupant les lésions autrefois dénommées : lésions à HPV/condylome, dysplasie légère, Cervical Intraepithelial Neoplasia 1 (CIN1))</p> <p>-Lésions malpighiennes intraépithéliales de haut grade (HSIL – LMIEHG) -(regroupant les lésions autrefois dénommées : dysplasies modérées et sévères, CIN2, CIN3 et CIS) -le cas échéant, présence d'éléments faisant suspecter un processus invasif (sans autre précision)</p> <p>-Le carcinome malpighien</p> |
|--|

3.3 Prise en charge des lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL)

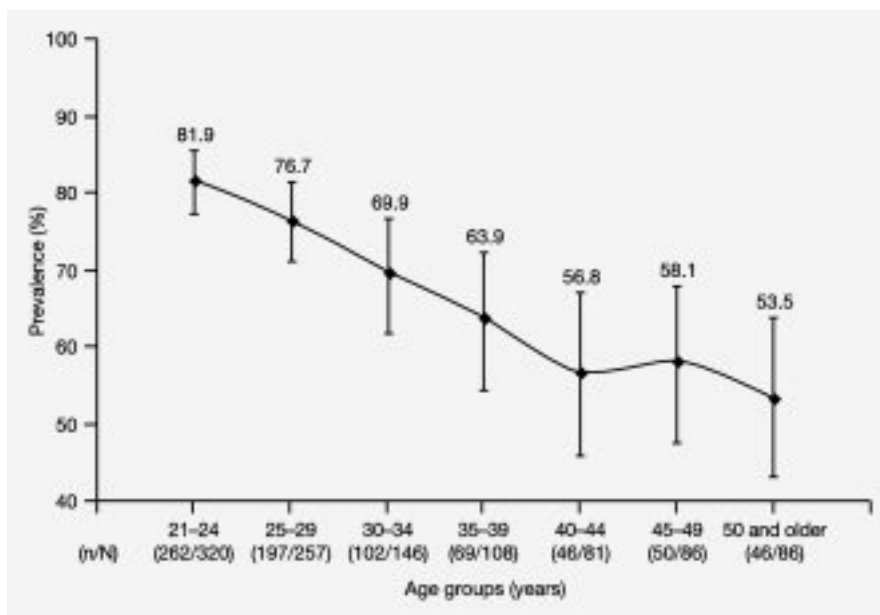
Les lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade (LSIL) sont un diagnostic rencontré fréquemment lors des frottis de dépistage du cancer du col de l'utérus. En effet, ce diagnostic est présent dans 2,3% des cas (7).

Or leur prise en charge reste controversée.

Les guidelines européennes et américaines (8) (9) conseillent d'avoir recours à la colposcopie lorsque le diagnostic de L-SIL est posé, à l'exception des adolescentes et des femmes ménopausées. Elles ne préconisent également pas d'effectuer le test de dépistage pour HPV HR chez toutes les femmes avec L-SIL. En effet, au vu de la grande incidence d'HPV HR positifs dans cette population, le test HVP n'est pas suffisamment sélectif, sauf pour les femmes en âge post-ménopausique (8)(9).

Ceci est particulièrement vrai pour les plus jeunes femmes, comme le montrent les chiffres obtenus par l'étude de Cuzick et al. (10), où 80% des cas de L-SIL chez les femmes de 21-29 ans étaient positifs pour HPV hauts risques. Cette étude a également montré que la prévalence des tests HPV HR positifs chez les cas de L-SIL diminue avec l'âge et que par exemple cela représente seulement 56,1% des cas chez les femmes de 40 ans ou plus.

Figure 2 : Positivité du test HPV HR par groupes d'âge chez les femmes avec une cytologie L-SIL



J Cuzick et al, International Journal of Cancer, *Human papillomavirus testing for triage of women with low-grade squamous intraepithelial lesions*, 3 AUG 2012 DOI: 10.1002/ijc.27723

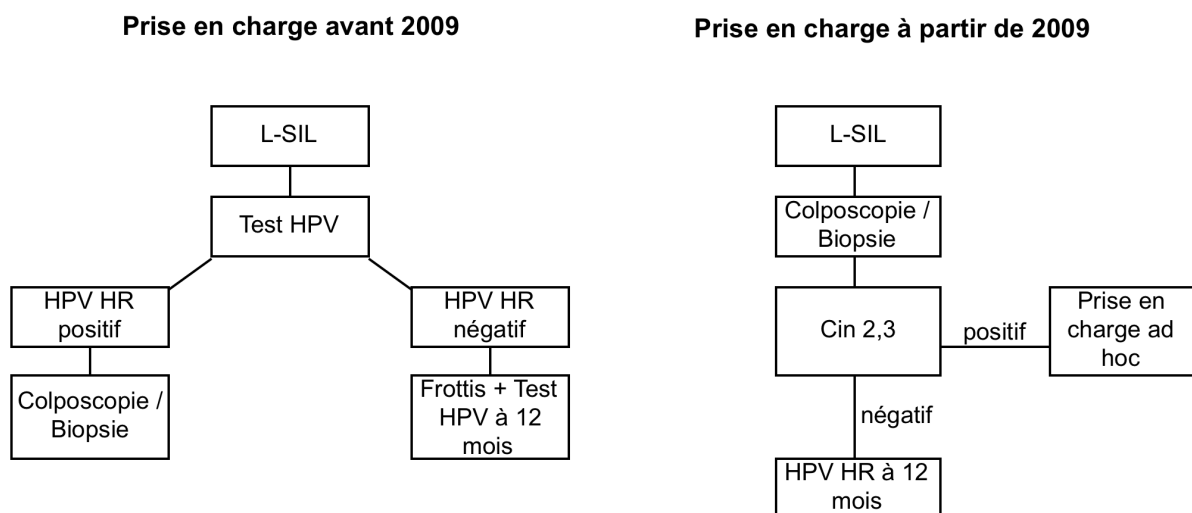
On sait également que l'évolution des lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grades en lésions de hauts grades ou en cancers du col de l'utérus ne surviennent qu'en cas d'infection par un HPV oncogène (HPV HR) (11). De ce fait, chez les

patientes avec diagnostic de L-SIL, un test HPV négatif pour les hauts risques permettrait d'éviter des examens complémentaires inutiles et de poursuivre la prise en charge par un retour au dépistage habituel avec un frottis et un test HPV à 12 mois (2), sans passer automatiquement par une colposcopie.

Au sein de l'hôpital universitaire de Lausanne (CHUV), avant 2009 un test HPV était effectué chez toutes les femmes avec un diagnostic de L-SIL et seules les patientes avec un test HPV HR positif étaient adressées en colposcopie. Or actuellement, et suivant les guidelines européennes de 2006 (9), l'attitude générale est de faire une colposcopie à toutes les patientes avec un diagnostic initial de L-SIL, sauf les adolescentes et les femmes ménopausées, ceci sans faire préalablement un test HPV. Selon les connaissances actuelles citées précédemment cette démarche semble efficiente chez les jeunes patientes, mais pas chez les femmes de plus de 30 ans. En effet dans cette tranche d'âge, selon les chiffres de l'étude de Cuzick et al. (10), plus de 40% des femmes seraient référées inutilement en colposcopie car elles ne seraient pas infectées par un HPV HR et auraient donc un risque très faible d'évolution de leur lésion L-SIL vers une lésion de plus haut grade.

Notre étude a pour but de comparer les deux approches différentes de prise en charge des femmes de plus de 30 ans présentant un diagnostic de L-SIL, soit celle qui était en vigueur au CHUV avant 2009 et la prise en charge actuelle (figure 3).

Figure 3 : Algorithmes de prise en charge des femmes avec L-SIL selon les anciennes et les nouvelles directives en vigueur au CHUV



3.4 Objectifs de ce travail

- évaluer s'il existe une différence significative dans le devenir des femmes de plus de 30 ans avec diagnostic de L-SIL selon la prise en charge dont elles ont bénéficié
- évaluer l'utilité d'effectuer un test HPV de manière systématique chez ces femmes
- évaluer la prévalence des HPV hauts risques dans cette population
- évaluer l'utilité d'une colposcopie systématique dans le suivi de ces femmes
- évaluer s'il existe une différence dans le devenir des femmes positives pour HPV haut risque par opposition aux femmes positives pour HPV bas risque ou avec un test HPV négatif

4. MÉTHODE

Il s'agit d'une étude rétrospective, monocentrique. La liste des patientes pouvant potentiellement être incluses dans notre étude a été extraite de la base de données informatique du CHUV.

Le CHUV est un établissement hospitalier avec un double rôle, celui d'hôpital universitaire pour le canton de Vaud et celui d'hôpital de zone pour la région lausannoise, dont la population concernée représente environ 320'000 habitants. Les Hospices-CHUV comportent un total de 1050 lits, dont 36 sont attribués au service de gynécologie. Le Département de gynécologie-obstétrique possède une policlinique qui est ouverte à toutes les femmes souhaitant consulter. Les motifs de consultation sont divers mais ceux donnant lieu le plus souvent à un frottis de dépistage du cancer du col de l'utérus sont les contrôles périodiques et les suivis de grossesse.

Dans notre étude, nous avons étudié le dossier de toutes les femmes de plus de 30 ans ayant eu une cytologie avec un diagnostic de L-SIL du col de l'utérus au CHUV entre le 01.01.09 et le 31.12.10, soit au total 261 patientes. Parmi celles-ci ont été incluses dans l'étude celles dont ce diagnostic de L-SIL était initial, soit 61 femmes. Ont été exclues de l'étude toutes les femmes qui présentaient dans leur dossier des antécédents de lésions du col de l'utérus dans les 4 dernières années, ainsi que toutes les femmes dont le dossier informatique était indisponible ou incomplet.

4.1 Cytologies

Les cytologies ont été effectuées avec des frottis en milieu liquide (Thin Prep). Pour ce faire, les cliniciens ont prélevé des cellules au niveau de l'endocol à l'aide d'une cytobrosse en plastique, les ont mises en suspension dans un liquide de conservation puis les ont transvasées dans un flacon contenant un fixateur. Le matériel a été analysé par l'institut de Pathologie du CHUV. Les résultats ont été classifiés selon le système Bethesda.

4.2 Tests HPV

Les résultats des tests HPV sont tirés d'une base de données annexe, appartenant à l'Institut de Microbiologie.

La recherche de HPV a été effectuée à l'aide de la PCR suivie de l'hybridation réverse, qui permet de déterminer le génotype de ces virus. Ils ont été réalisés sur les cellules résiduelles après cytologie selon Estrade et al. (16). Selon la classification en vigueur à l'Institut de Microbiologie, ont été considérés comme HPV de bas risque les génotypes 6, 11, 34, 40, 42, 44, 53, 54, 57, 70, 84, comme HPV de haut risques les génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82 et comme HPV de risque indéterminé tous les autres génotypes.

4.3 Colposcopies

Les résultats des colposcopies sont tirés d'une base de données annexe qui appartient au service de gynécologie du CHUV. Le col de l'utérus a été examiné sous colposcopie sans préparation, ainsi qu'après application d'acide acétique et de lugol. Le diagnostic se base sur l'impression colposcopique décrite par le médecin examinateur. Dans cette étude ont été considérées comme sans particularité les colposcopies dont l'impression colposcopique était : sans particularité, polype, cicatrice, séquelles de condylome, métaplasie. Ont été considérées comme L-SIL les colposcopies dont l'impression colposcopique était : HPV, L-SIL, CIN1, condylome plan, condylomes multiples. Ont été considéré comme H-SIL les colposcopie dont l'impression colposcopique était : H-SIL, CIN2, L-SIL+H-SIL. Certaines colposcopies étaient non interprétables.

4.4 Biopsies

Les résultats des biopsies sont tirés de la base de données Archimède.

Les biopsies ont été effectuées lors des colposcopies, lorsque le clinicien l'a jugé nécessaire pour éclaircir la nature de lésions observées au colposcope. Elles ont été examinées par le service de pathologie du CHUV. Pour les biopsies, la classification histologique utilisée est celle de Richart (tableau 2), basée sur des critères morphologiques. Elle divise les lésions de bas grade en CIN1 et les lésions de haut grade en CIN2 et CIN3.

Tableau 2 : Classification de Richart (CIN = Cervical Intraepithelial Neoplasia)

| | |
|--------|--|
| CIN1 : | <ul style="list-style-type: none"> - Hyperplasie des couches basales - Anomalies des cellules des couches profondes localisées dans le tiers inférieur - Persistance d'une bonne différenciation en surface - Mitoses dans le tiers inférieur |
| CIN2 : | <ul style="list-style-type: none"> - Anomalies cytonucléaires touchant la 1/2 ou les 2/3 de la hauteur - Charge glycogénique en surface diminuée - Différenciation tardive : les mitoses sont élevées jusque dans le tiers moyen de l'épithélium |
| CIN3 : | <ul style="list-style-type: none"> - Désorganisation architecturale presque complète - Anomalies cytonucléaires marquées présentes dans les trois tiers de l'épithélium - Mitoses nombreuses dans les couches superficielles - La maturation est tardive ainsi que la différenciation - Cependant la densité cellulaire est moins forte que dans le carcinome in situ |

(source : Diapositives du cours *Histologie du col normal et des néoplasies intraépithéliales* donné par Francine Walker et Annie Cortez, Hôpital Bichat-Claude Bernard et Hôpital Tenon Services d'anatomie pathologique)

4.5 Récolte des données et analyse des résultats

Les données acquises depuis Archimède, la base de données des colposcopies et depuis la base de données des pathologues et des virologues ont été réunies en un tableau Excel récapitulatif. Ce tableau indique pour chaque femme la chronologie de toutes les investigations qu'elle a subies et quelle fut l'évolution de sa pathologie.

Nous avons estimé qu'une femme a eu une colposcopie ou une biopsie au moment du diagnostic de L-SIL si ces examens avaient été réalisés dans un délai de 6 mois depuis la cytologie initiale. En effet cela correspond environ au délai maximal d'attente au CHUV pour chacun de ces examens.

Nous avons estimé que la L-SIL avait eu une évolution spontanément résolutive si les anomalies cytologiques avaient disparu complètement lors du dernier frottis de contrôle, ceci sans que la femme ait bénéficié d'un quelconque traitement pour ces lésions, telles qu'une vaporisation du col, une conisation ou l'application d'Aldara®. Un descriptif de l'échantillon a été effectué à l'aide de pourcentages. Le degré de dépendance entre les différentes variables a été calculé à l'aide de Odds ratio. Nous avons ainsi pu évaluer s'il y avait une différence de devenir chez ces femmes selon la prise en charge dont elles ont bénéficié.

5. RÉSULTATS

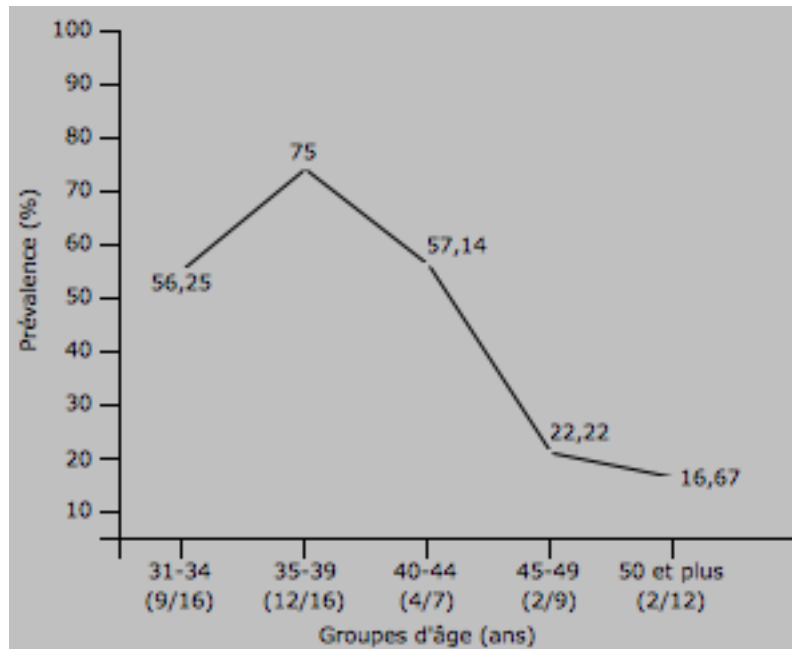
Au total 61 femmes sur 261 ont pu être incluses dans notre étude dont la moyenne d'âge était de 43 ans. Soixante (98,4%) d'entre elles ont eu un test HPV concomitant au diagnostic de L-SIL. Trente-sept (60,66%) ont bénéficié d'une colposcopie dans les 6 mois suivant ce diagnostic et 13 (21,31%) ont subi une biopsie (tableau 3).

5.1 Prévalence de HPV et de ses différents génotypes

Parmi les 60 femmes ayant eu un test HPV concomitant au diagnostic de L-SIL, 40 (66,67%) étaient HPV positives, 19 (31,67 %) étaient HPV négatives et 1 (1,67%) avait un test non interprétable. Dix-huit des tests HPV positifs étaient des infections mixtes. Parmi les test HPV positifs, 29 (48,33%) l'étaient pour un virus à hauts risques. Quinze de ces infections par HPV HR étaient des infections mixtes. Vingt patientes (33,3%) étaient HPV-négatives malgré le diagnostic de L-SIL.

La prévalence d'HPV HR diminue fortement à partir de 45 ans, comme l'illustre la figure 4.

Figure 4 : Prévalence de tests HPV positifs pour les hauts risques selon les groupes d'âge chez les femmes avec une cytologie de L-SIL



Chez ces 60 patientes, 27 différents génotypes d'HPV ont été identifiés lors du diagnostic de L-SIL. Le génotype le plus prévalent était le HPV 51, présent chez 6 de ces femmes, puis le génotype 59, présent chez 5 de ces femmes (tableau 3).

La somme globale des infections est plus grande que le nombre de patientes infectées à cause des infections mixtes (tableau 3).

Les cas de génotypes à bas risque associés à des CIN2 surviennent toujours dans le contexte d'infections mixtes avec un virus à haut risque (tableau 3).

Les génotypes les plus fréquemment retrouvés dans les L-SIL ayant évolué en lésions de haut grade sont les génotypes 31 et 33, tous deux présents dans 2 des 5 cas de lésions de haut-grade (tableau 3).

Tableau 3 : Résumé des résultats de cette étude : examens complémentaires effectués chez les femmes de plus de 30 ans avec L-SIL au CHUV

| Numéro de patiente | Résultat du test HPV | Génotype (s) HPV | Colposcopie dans les 6 mois | Résultat colposcopie | Biospie dans les 6 mois | Résultat biopsie | Evolution vers un CIN 2 | Evolution vers un CIN 3 |
|--------------------|----------------------|------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | positif | 16 | | | | | | |
| 2 | positif | 66 | + | L-SIL | | | | |
| 3 | positif | 59,66 | + | sp | + | CIN 1 | | |
| 4 | négatif | | | | | | | |
| 5 | positif | 72,83 | + | L-SIL | + | sp | | |
| 6 | négatif | | + | sp | | | | |
| 7 | positif | 68 | | | | | | |
| 8 | positif | 44,53,6 | + | sp | | | | |
| 9 | positif | 84 | | | | | | |
| 10 | positif | 31,6,70 | | | | | + | |
| 11 | positif | 31,51 | + | L-SIL | + | CIN 1 | + | |
| 12 | positif | 61 | + | sp | | | | |
| 13 | négatif | | + | sp | | | | |
| 14 | positif | 44,53 | + | sp | | | | |
| 15 | positif | 33,52 | + | L-SIL | | | + | |
| 16 | positif | 55 | + | L-SIL | | | | |
| 17 | négatif | | | | | | | |
| 18 | positif | 59,73 | + | L-SIL | | | | |
| 19 | négatif | | + | sp | | | | |
| 20 | négatif | | | | | | | |
| 21 | positif | 73 | | | | | | |
| 22 | positif | 31 | + | L-SIL | + | CIN 1 | | |
| 23 | positif | 51,52,59 | | | | | | |
| 24 | positif | 51 | | | | | | |
| 25 | positif | 51,53 | + | L-SIL | | | | |
| 26 | positif | 16 | | | | | | |
| 27 | négatif | | + | L-SIL | | | | |
| 28 | négatif | | | | | | | |
| 29 | positif | 54 | | | | | | |
| 30 | positif | 16,26 | + | L-SIL | | | | |
| 31 | positif | 52 | + | L-SIL | | | | |
| 32 | négatif | | + | L-SIL | | | | |
| 33 | négatif | | | | | | | |
| 34 | négatif | | + | H-SIL | + | CIN 1 | | |
| 35 | négatif | | + | L-SIL | + | sp | | |
| 36 | négatif | | | | | | | |
| 37 | négatif | | | | | | | |
| 38 | positif | 59 | + | L-SIL | + | CIN 1 | | |
| 39 | positif | 18 | + | L-SIL | | | | |
| 40 | positif | 55,56,58,70,73 | + | NI (non interprétable) | | | | |
| 41 | positif | 33 | + | L-SIL | | | + | |
| 42 | positif | 56,58,68 | + | L-SIL | + | CIN 1 | | + |
| 43 | positif | 35,6 | + | L-SIL | | | | |
| 44 | positif | 68,83 | + | L-SIL | + | CIN 1 | | |
| 45 | positif | 51,59 | | | | | | |
| 46 | positif | 66 | + | sp | | | | |
| 47 | positif | 42 | | | | | | |
| 48 | positif | 18 | + | sp | | | | |
| 49 | négatif | | | | | | | |
| 50 | positif | 72 | + | L-SIL | + | NI | | |
| 51 | positif | 55 | | | | | | |
| 52 | positif | 39,51 | + | L-SIL | | | | |
| 53 | négatif | | + | L-SIL | + | sp | | |
| 54 | négatif | | + | L-SIL | + | CIN 1 | | |
| 55 | négatif | | + | L-SIL | | | | |
| 56 | NI | | | | | | | |
| 57 | négatif | | + | L-SIL | + | CIN 1 | | |
| 58 | positif | 44,82 | | | | | | |
| 59 | positif | 56 | | | | | | |
| 60 | positif | 42 | | | | | | |
| 61 | pas effectué | | + | L-SIL | | | | |

5.2 Résultat des colposcopies

Parmi les 37 femmes ayant bénéficié d'une colposcopie dans les 6 mois suivant le frottis diagnostique de L-SIL, 26 (70,27%) se sont vu confirmer leur diagnostic de L-SIL, 9 colposcopies (24,32%) étaient sans particularité et 1 (2,7%) était non interprétable (tableau 3). Une colposcopie a diagnostiqué un H-SIL (2,7%). Le délai d'attente pour une colposcopie après le diagnostic de L-SIL était de 102 jours.

5.3 Résultat des biopsies

Parmi les 13 femmes ayant bénéficié d'une biopsie dans les 6 mois suivant le frottis diagnostique de L-SIL, 1 (7,69%) était non interprétable, 3 (23,08%) ne montraient pas de dysplasie, 9 (69,23%) montraient un CIN1 et aucune ne montrait de lésion de haut grade (tableau 3). Les cas de CIN2 et CIN3 ont été diagnostiqués plus tard dans la prise en charge.

5.4 Concordance du L-SIL avec les résultats de la colposcopie et de la biopsie selon que la patiente est HPV HR ou non

Comme dit précédemment, parmi les 61 femmes avec diagnostic initial de L-SIL, 37 ont eu une colposcopie dans les 6 mois suivants, dont 26 (70,27%) confirmaient le diagnostic de L-SIL. Parmi elles 13 ont eu une biopsie dans le même laps de temps et 9 (69,23%) confirmaient le CIN1. Si l'on considère que la présence ou l'absence de la maladie est établie par le test gold standard qui est la biopsie, la valeur prédictive positive de la cytologie pour les L-SIL est de 69%.

Parmi les 40 femmes avec diagnostic initial de L-SIL et un test HPV positif pour n'importe quel génotype, 25 ont eu une colposcopie dans les 6 mois suivants, dont 18 (72%) confirmaient le diagnostic de L-SIL. Parmi elles 8 ont eu une biopsie dans le même laps de temps, dont 6 (75%) confirmaient le CIN1. La valeur prédictive positive de la cytologie pour le L-SIL dans ce groupe est donc de 75%.

En comparaison, parmi les 29 femmes avec un diagnostic initial de L-SIL et un test HPV positif pour les hauts risques, 19 ont subi une colposcopie dans le 6 mois, dont 15 (78,94%) confirmaient le diagnostic de L-SIL et 6 ont eu une biopsie, dont 6 (100%) confirmaient le CIN1. Dans ce groupe la valeur prédictive positive de la cytologie pour les L-SIL est donc de 100%.

Ceci peut nous indiquer qu'un test HPV HR positif augmente la valeur prédictive positive de la cytologie pour les L-SIL.

5.5 Concordance entre l'impression colposcopique et la biopsie

Les femmes ayant bénéficié d'une colposcopie ainsi que d'une biopsie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL sont au nombre de 13. Pour 7 d'entre elles (53,85%), la biopsie confirme l'impression colposcopique (tableau 3). Pour les 6 autres cas, le diagnostic à la biopsie diffère de l'impression colposcopique, dans 4 d'entre eux la colposcopie surestime la gravité de la lésion, dans un cas elle la sous-estime et dans un cas la biopsie est non interprétable.

5.6 Evolution vers un CIN2 ou CIN3

De 2009 à aujourd'hui, 5 des femmes incluses dans l'étude ont eu au cours de leur suivi une biopsie confirmant l'évolution de leurs lésions vers une pathologie plus avancée, dont 4 vers un CIN2 et 1 vers un CIN3 (tableau 3). Ces cinq cas étaient positifs pour HPV HR. La valeur prédictive négative d'un test HPV négatif pour les hauts risques est donc de 1 lorsqu'il s'agit de prédire une transformation en lésion de haut grade. Quatre de ces cas avaient bénéficié d'une colposcopie ainsi que d'une biopsie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL.

Dans notre étude, 3 femmes sur les 61 incluses étaient infectées par le virus du VIH. Or parmi les 5 femmes ayant développé des lésions de haut grade, 2 étaient atteintes du VIH. Cela représente un Odds ratio de 36,67.

5.7 Comparaison entre les patientes L-SIL positives pour HPV haut risque et les patientes dont le test HPV était négatif pour les hauts risques

Comme dit précédemment, parmi les 60 patientes de l'étude ayant bénéficié d'un test HPV au moment du diagnostic, 29 (47,54%) avaient un test HPV positif pour les hauts risques et 31 patientes non. On observe une différence dans la prise en charge de ces deux différents groupes. En effet, les patientes avec HPV HR ont un peu plus souvent bénéficié d'une colposcopie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL, elles étaient 19 (65,52%) à avoir eu cet examen, contre 17 (54,84%) dans le groupe des patientes non infectées par un HPV HR.

On peut également observer une différence dans le devenir des femmes au sein de ces deux différents groupes. Parmi les femmes positives pour HPV HR, seules 9 (31,03%) ont eu une évolution de leur lésion spontanément résolutive, contre 16 (51,61%) parmi les femmes sans HPV HR. Parmi les femmes positives pour HPV HR, 6 (20,69%) ont du subir une conisation ou une vaporisation et 5 (17,24%) ont vu

leur L-SIL évoluer vers une lésion de plus au grade. Tandis que ces chiffres sont respectivement de 2 (6,25%) et de 0 dans le groupe des femmes avec un test HPV négatif pour les hauts risques.

Tableau 4 : Résumé des examens et interventions subies, ainsi que de l'évolution des lésions de femmes avec un L-SIL, selon si elles étaient HPV HR positives ou non

| | Patientes ayant eu un test HPV au moment du diagnostic de L-SIL | Patientes dont le test HPV était positif pour les hauts risques | Patientes dont le test HPV n'était pas positif pour les hauts risques |
|--|---|---|---|
| Nombre de patientes | 60 | 29 (48,33%) | 31 (51,67%) |
| Ont eu une colposcopie dans les 6 mois suivant le diagnostic | 36 | 19 (65,52%) | 17 (54,84%) |
| Ont eu une évolution spontanément résolutive | 25 | 9 (31,03%) | 16 (51,61%) |
| Ont subi une électroconisation ou une vaporisation | 8 | 6 (20,69%) | 2 (6,25%) |
| Ont évolué en lésion de haut grade | 5 | 5 (17,24%) | 0 |

6. DISCUSSION

Le but initial de ce travail était de comparer deux différentes approches de prise en charge des patientes L-SIL au CHUV entre 2009 et 2010.

Or le premier élément que l'on peut constater suite à cette étude, est que la nouvelle prise en charge, comme préconisée par les guidelines européennes de 2006 (9), n'était pas encore appliquée au sein du service de gynécologie du CHUV en 2010. En effet celle-ci recommande d'effectuer directement une colposcopie à toutes les femmes avec un diagnostic de L-SIL, sans faire de test HPV au préalable. Or l'on constate que parmi les 61 femmes incluses dans notre étude, une seule n'a pas eu de test HPV effectué au moment du frottis diagnostic, et seules 37 (60,66%) ont bénéficié d'une colposcopie dans un délai d'attente de 6 mois après le diagnostic de

L-SIL. De ce fait l'objectif premier de notre étude, qui était de comparer ces deux prises en charge n'a pas pu être effectué.

L'utilisation des tests HPV a été faite de manière presque systématique chez ces femmes de plus de 30 ans. Or seuls 48,33% étaient positifs pour les hauts risques. Ce taux est nettement inférieur à ce qu'on trouve dans la littérature chez les patientes L-SIL tous âges confondus, qui est de 65-72% (7)(10). Or l'argument majeur invoqué dans les guidelines européennes pour l'éviction du test HPV systématique dans la prise en charge des femmes L-SIL est le fait qu'il n'est pas assez sélectif au vu de la forte prévalence de HPV HR au sein de la population. Au vu des chiffres obtenus dans notre étude, on peut remettre en question la pertinence de ces guidelines quand il s'agit des femmes de plus de 30 ans. En effet, étant donné la prévalence plus faible de HPV hauts risques dans cette tranche d'âge, un test HPV paraît être un outil utile et rentable pour déterminer les cas de L-SIL à risque d'évoluer vers une lésion maligne. En effet, les résultats de notre étude appuient un fait déjà connu, la valeur prédictive négative d'un test HPV négatif pour les hauts risques s'approche de 1 lorsqu'il s'agit de prédire une transformation d'un L-SIL en lésion de haut grade. De ce fait, une colposcopie semble être un examen non contributif dans la prise en charge d'une femme L-SIL non infectée par un HPV oncogène, car il n'aura pas d'influence sur l'attitude ou le pronostic. On peut donc en conclure que si les nouvelles guidelines étaient appliquées à la lettre au CHUV, 50% des colposcopies effectuées chez des femmes de plus de 30 ans seraient inutiles, car procédées chez des femmes négatives pour HPV haut risque.

Selon les chiffres avancés par le Groupement Romand de la Société Suisse de Gynécologie et Obstétrique, la sensibilité de la cytologie pour le dépistage de lésions précancéreuses du col de l'utérus est de 61-76% et sa spécificité de 82-91% (3). Ceci en fait un bon test de dépistage, mais dont les taux de faux négatifs et de faux positifs sont non négligeables. Ces paramètres doivent donc être pris en compte par le clinicien au moment d'interpréter ce test. Dans ce contexte, les résultats de notre étude montrent une autre contribution du test HPV dans le dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus. En effet, il semble qu'un test HPV positif pour les hauts risques augmente la valeur prédictive positive de la cytologie pour les L-SIL. Dans notre étude celle-ci passe de 0,69 à 1 si le test HPV est positif pour les hauts

risques. Notre échantillon est de taille trop réduite pour que ces chiffres soient complètement valides et il faudrait calculer des intervalles de confiance pour confirmer ces résultats. Néanmoins ils semblent indiquer que le test HPV peut être une aide utile à la réflexion pour un clinicien qui s'interroge sur la validité d'un frottis diagnostique de L-SIL.

Si l'on étudie la distribution des taux de tests HPV positifs pour les hauts risques selon les groupes d'âge (figure2, figure3), on observe une différence entre ceux obtenus dans notre étude et ceux obtenus par Jack Cuzick et ses collègues. En effet, dans leur étude la courbe de taux de test HPV positifs pour les hauts risques diminue progressivement avec l'âge de patientes. Or dans notre étude, on dénote un pic de prévalence à 75% entre 35 et 39 ans, puis une diminution progressive.

Il est étonnant de constater le faible nombre de cas de HPV 16 et de HPV 18 dans ce collectif, et surtout de voir qu'aucun cas à évolution sévère y soit associé. En effet selon les connaissances actuelles ces 2 génotypes sont responsables de 70% des cas du col de l'utérus (23).

Dans notre étude, les femmes ayant bénéficié d'une colposcopie ainsi que d'une biopsie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL sont au nombre de 13. Or seulement pour 7 d'entre elles (53,85%), la biopsie confirme l'impression colposcopique. Ceci nous indique que la colposcopie manque de spécificité. On peut expliquer ce phénomène entre autre par le fait que cet examen est très opérateur dépendant, et qu'il peut être effectué par des cliniciens manquant d'expertise dans ce domaine. Pour les 6 cas où le diagnostic à la biopsie diffère de l'impression colposcopique, il est intéressant de constater que dans 4 d'entre eux la colposcopie surestime la lésion et dans un cas elle la sous-estime. Ceci peut nous laisser penser que chez 30% des patientes bénéficiant de cet examen, la colposcopie peut engendrer des prises en charge trop agressives au vu du grade réel de la lésion. Le résultat de ce test est donc à pondérer par les résultats de la cytologie et de l'histologie.

De 2009 à aujourd'hui, 5 des femmes incluses dans l'étude ont eu au cours de leur suivi une biopsie confirmant l'évolution de leur lésion vers une pathologie plus

sévère, dont 4 vers un CIN2 et 1 vers un CIN3. Il est intéressant de constater que ces cinq cas étaient positifs pour HPV haut risque. Ce qui va dans le sens des données scientifiques actuelles, selon lesquelles seuls les HPV hauts risques sont capables d'induire des lésions épithéliales de haut grade (5). La valeur prédictive négative d'un test HPV négatif pour les hauts risques est donc de 1 lorsqu'il s'agit de prédire une transformation en lésion de haut grade. Cela met en lumière l'utilité du test HPV pour évaluer quelle est la prise en charge la plus adéquate d'une lésion L-SIL. En effet si celui-ci est négatif pour les hauts risques, des examens complémentaires tels que la colposcopie et la biopsie semblent inutiles, car ils n'auront aucune influence sur le pronostic de la maladie.

Parmi ces 5 cas ayant évolué vers une lésion de haut grade, 4 avaient bénéficié d'une colposcopie ainsi que d'une biopsie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL, ce qui correspond à la prise en charge recommandée par les nouveaux guidelines. Même si le collectif est trop petit pour pouvoir tirer des conclusions, cela semble indiquer que pour les femmes de plus de 30 ans cette prise en charge ne fait pas baisser l'incidence des lésions de haut grade.

Dans notre étude, 3 femmes sur les 61 incluses étaient infectées par le virus du VIH. Or parmi les 5 femmes ayant développé des lésions de haut grade, 2 étaient atteintes du VIH. Cela représente un Odds ratio de 36,67. Ces résultats montrent que l'infection par VIH est un facteur de risque majeur pour l'évolution des lésions de bas grade vers des lésions de haut grade.

Comme l'illustre la figure 5, il est intéressant de comparer le devenir des femmes avec diagnostic initial de L-SIL et un test HPV négatif pour les hauts risques avec celles ayant un test HPV positif pour les hauts risques. On observe une légère différence dans la prise en charge de ces deux différents groupes. En effet, les patientes avec HPV HR ont un peu plus souvent bénéficié d'une colposcopie dans les 6 mois suivant le diagnostic de L-SIL. Ce qui va dans le sens des anciennes guidelines. On peut également observer une différence dans le devenir des femmes au sein de ces deux groupes. Parmi les femmes positives pour HPV HR, seules 9 (31,03%) ont eu une évolution de leur lésion spontanément résolutive, contre 16 (51,61%) parmi les femmes sans HPV HR. On peut en déduire qu'une prise en

charge par surveillance simple est plus adaptée dans le groupe des patientes non infectées par HPV hauts risques, dont la moitié guérira spontanément.

Parmi les femmes positives pour HPV HR, 6 (20,69%) ont du subir une conisation ou une vaporisation et 5 (17,24%) ont vu leur L-SIL évoluer vers une lésion de plus au grade. Tandis que ces chiffres sont de respectivement de 2 (6,25%) et de 0 dans le groupe des femmes avec un test HPV HR négatif. On peut donc constater qu'un test HPV HR positif entraîne un risque accru d'évolution de la lésion L-SIL vers une lésion de haut grade et entraîne une augmentation de la prévalence de cas où un traitement opératoire est nécessaire. Cela justifie donc un suivi plus strict et une prise en charge plus agressive des femmes L-SIL infectées par HPV HR.

6.1 Biais

Notre étude est rétrospective, et plusieurs biais sont inhérents à cette méthodologie. Tout d'abord en ce qui concerne les critères de sélection. Les critères d'inclusion dans notre étude étaient d'être une femme de plus de 30 ans avec un diagnostic initial de L-SIL posé lors d'un frottis de dépistage effectué au CHUV. Or dans la base de données de l'hôpital, il n'existe pas de rubrique particulière qui permet de préciser si la femme était déjà connue pour un L-SIL, ou si elle avait déjà eu un frottis L-SIL dans un autre établissement ou chez un gynécologue installé. Ces informations étaient parfois présentes dans leur dossier gynécologique, où souvent le clinicien avait reporté ces données dans les rubriques regroupant les antécédents de la patiente. Cependant, si la femme ne l'a pas mentionné au moment de l'entretien, ou si le clinicien n'a pas pris le soin de demander ou de noter ces informations de manière complète, un frottis effectué au CHUV peut être faussement considéré comme diagnostic initial de L-SIL. On ne peut prédire quel est le taux de ces femmes incluent à tort dans cette recherche, et ceci constitue le biais principal de cette étude. Un autre biais découle du suivi de ces femmes. En effet, les patientes ont la possibilité à tout moment du suivi d'aller poursuivre leur prise en charge auprès d'un autre gynécologue ou établissement hospitalier, et ceci sans en informer expressément le CHUV. De ce fait, il se peut que des informations sur le devenir de ces femmes soient absentes de la base de données du CHUV. Dans ce cas, une patiente dont on pensait la lésion spontanément résolutive au vu des examens effectués au CHUV, peut en réalité avoir eu un L-SIL qui a évolué vers une lésion de haut grade, mais dont le diagnostic aura été effectué ailleurs. Le fait que ces femmes

puissent en tout temps interrompre leur suivi au CHUV, peut mener à sous-estimer le taux de celles ayant bénéficié de la nouvelle prise en charge en vigueur depuis 2009. En effet, si elles ne se sont pas présentées à une colposcopie qui avait bel et bien été prévue suite au diagnostic de L-SIL, elles ont été comptabilisées à tort parmi celles n'ayant pas reçu une prise en charge correspondant aux nouvelles guidelines.

De ce fait, si l'on voulait obtenir des résultats vraiment fiables quant à la prise en charge de ces femmes L-SIL de plus de 30 ans, il faudrait effectuer une étude prospective randomisée. Dans celle-ci seraient incluses toutes les femmes de plus de 30 ans venant pour un frottis de dépistage au CHUV et chez qui on aurait spécifiquement investigué les antécédents gynécologiques pour s'assurer qu'elles n'étaient pas déjà connues pour une dysplasie du col de l'utérus. Il faudrait alors répartir par tirage au sort celles dont le frottis montrerait un L-SIL en deux groupes, un qui serait strictement pris en charge selon les anciennes guidelines et l'autre selon les nouvelles. Il faudrait aussi recenser formellement toutes les interruptions de suivi.

7. CONCLUSION

Trois points importants ont été soulevés par cette étude. Premièrement, les nouvelles guidelines en vigueur au CHUV concernant la prise en charge des femmes avec diagnostic de L-SIL ne sont pas encore formellement appliquées en 2010. Ensuite, ces nouvelles guidelines ne semblent pas être applicables aux femmes de plus de 30 ans, chez qui la prévalence du HPV HR est inférieure, et qui risquent alors de subir des examens complémentaires invasifs, sans qu'il y ait de réel bénéfice sur le pronostic de leur pathologie. Enfin, les biais inhérents à la méthodologie de cette étude indiquent que ces résultats doivent être considérés avec prudence, et devraient être confirmés par une étude prospective.

8. BIBLIOGRAPHIE

- (1) Achtari C, Brioschi PA, Brunisholz Y, Petignat P. Recommandations pour la prise en charge des cancers gynécologiques. Prospectus du Groupement Romand de la Société Suisse de Gynécologie et Obstétrique 2012 ; p.6-9.
- (2) Navarria I, Jacot-Guillarmod M, et al. Recommandations pour la prise en charge des pathologies cervicales. Prospectus du Groupement Romand de la Société Suisse de Gynécologie et Obstétrique 2012.
- (3) Office fédéral de la santé publique, Commission fédérale pour les vaccinations, Recommandations de vaccination contre les papillomavirus humains (HPV), Directives et recommandations, Berne: Office fédéral de la santé publique, 2008.
- (4) Tranbaloc P. Histoire naturelle des lésions précurseurs du cancer du col utérin. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 2008 ; 36 : 650–655
- (5) Mougin C, Nicolier M, Decrion-Barthod AZ. HPV et cancers : mécanismes de l'oncogenèse. *Revue Francophone des Laboratoires* 2008 ; 405 : 35-42.
- (6) Solomon D, Davey D, Kurman R, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA* 2002; 287: 2114–19.
- (7) Wright TC, Jr, Stoler MH, Behrens C, et al. The ATHENA human papillomavirus study: design, methods, and baseline results. *Am J Obstet Gynecol* 2012 ; 206: 46e1–e11.
- (8) Jordan J, Arbyn M, Martin-Hirsch P, et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for clinical management of abnormal cervical cytology, part 1. *Cytopathology* 2008; 19: 342–54.
- (9) Wright TC, Jr, Massad LS, Dunton CJ, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 346–55.
- (10) Cuzick J, Cox JT, Zhang Guili Z, et al. Human papillomavirus testing for triage of women with low-grade squamous intraepithelial lésions. *International Journal of Cancer* 2012 ; doi: 10.1002/ijc.27723.

- (11) Nubia Muñoz, M.D., F. Xavier Bosch, M.D., Silvia de Sanjosé, M.D., et al. for the International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
- (12) F X Bosch, A Lorincz, N Muñoz, C J L M Meijer, K V Shah. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *Journal of Clinical Pathology* 2002; 55: 244-265.
- (13) ALTS Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 1393–400.
- (14) Ronco G, Cuzick J, Segnan N, et al. HPV triage for low grade (L-SIL) cytology is appropriate for women over 35 in mass cervical cancer screening using liquid based cytology. *European Journal of Cancer* 2007; 43: 476–80.
- (15) Frega A, Biamonti A, Maranghi L, Vetrano G, et al. Follow-up of High-grade Squamous Intra-epithelial Lesions (H-SILs) in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-positive and Human Papillomavirus (HPV)-positive Women. Analysis of Risk Factors. *International Journal of Cancer Research* 2006 ; 26: 3167-3170.
- (16) Estrade C, Menoud P-A, Nardelli-Haefliger D, Sahli R. Validation of a low-cost human papillomavirus genotyping assay based on PGMV PCR and reverse blotting hybridization with reusable membranes. *Journal of Clinical Microbiology* 2011 ; 49 : 3474 :3481.
- (17) Wright T, Schiffman M. Adding a test for human papillomavirus DNA to cervical-cancer screening. *The New England Journal of Medicine* 2003 ; 348 : 489-491.
- (18) Arbyn M, Paraskevaidis E, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Dillner J. Clinical utility of HPV-DNA detection : triage of minor cervical lesions, follow-up of women treated for High-grade CIN : an update of pooled evidence. *Gynecologic Oncology* 2005 ; 99 : 7-11.
- (19) Tuon FF, Bittencourt MS, Panichi MA, Pinto AP. Sensibility and specificity of cytology and colposcopy exams with the histological evaluation of cervical intraepithelial lesions. *Revista da Associação Médica Brasileira* 2002 ; 48 : 140-144.
- (20) Passamonti B, Gustinucci D, Recchia P, Bulletti S, et al. Expression of p16 in abnormal pap-tests as an indicator of CIN2+ lesions: a possible role in the low

- grade ASC/US and L/SIL (lg) cytologic lesions for screening prevention of uterine cervical tumours. *Pathologica* 2010 ; 102 : 6-11.
- (21) Chacón J, Sanz I, Rubio MD, de la Morena ML. Detection and genotyping of high-risk human papillomavirus in cervical specimens. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2007 ; 25 : 311-316.
- (22) Madelief M, Boot Hein J, Vriend Henrike J, King Audrey J, et al. Prevalence, incidence and persistence of genital HPV infections in a large cohort of sexually active young women in the Netherlands. *Vaccine* 2012 ; doi : 10.1016/j.vaccine.2012.10.087.
- (23) Sahli R, Diapositives du cours *Biologie et potentiel oncogène des différents génotypes d'HPV*, Institut de Microbiologie CHUV-UNIL, Lausanne, 2012