



HAL
open science

Evaluation de la prise en charge des dysplasies cervicales chez 396 patientes traitées par conisation

Dalila El Bahja

► **To cite this version:**

Dalila El Bahja. Evaluation de la prise en charge des dysplasies cervicales chez 396 patientes traitées par conisation. Sciences du Vivant [q-bio]. 2011. hal-01733198

HAL Id: hal-01733198

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733198v1>

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

Par

Dalila EL BAHJA

Le 12 Octobre 2011

TITRE

**« EVALUATION DE LA PRISE EN CHARGE
DES DYSPLASIES CERVICALES CHEZ 396 PATIENTES TRAITEES PAR
CONISATION »**

Examineurs de la thèse:

Mr Ph. JUDLIN

Professeur

Président

Mr J.-L. BOUTROY

Professeur

Juge

Mr J.-M. VIGNAUD

Professeur

Juge

Mr O. MOREL

Maître de Conférences

Juge

Mr Th. ROUTIOT

Docteur en Médecine

Directeur

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen « Pédagogie » : Professeur Karine ANGIOI

Vice Doyen Mission « sillon lorrain » : Professeur Annick BARBAUD

Vice Doyen Mission « Campus » : Professeur Marie-Christine BÉNÉ

Vice Doyen Mission « Finances » : Professeur Marc BRAUN

Vice Doyen Mission « Recherche » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Asseseurs :

- 1 ^{er} Cycle :	Professeur Bernard FOLIGUET
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »	M. Christophe NÉMOS
- 2 ^{ème} Cycle :	Professeur Marc DEBOUVERIE
- 3 ^{ème} Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI
« DES Spécialité Médecine Générale »	Professeur Francis RAPHAËL
- Filières professionnalisées :	M. Walter BLONDEL
- Formation Continue :	Professeur Hervé VESPIGNANI
- Commission de Prospective :	Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT
- Recherche :	Professeur Didier MAINARD
- Développement Professionnel Continu :	Professeur Jean-Dominique DE KORWIN

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY – Patrick BOISSEL -
Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude
CHARDOT Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre
DESCHAMPS - Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE – Jean -
FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ -
Simone GILGENKRANTZ - Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT – Michèle
KESSLER - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE -
Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE Pierre LEDERLIN -Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre
MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU - Denise MONERET-VAUTRIN – Pierre MONIN - Pierre NABET -
Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN Gilbert PERCEBOIS Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc
PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL Jean PREVOT - Antoine RASPILLER - Michel
RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul SADOUL - Daniel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Jean
SOMMELET - Danièle SOMMELET – Jean-François STOLTZ – Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Augusta
TREHEUX - Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel
WAYOFF - Michel WEBER

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Professeur Bernard FOLIGUET

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)
Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)
Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER
2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)
Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON
Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER
Professeur René ANXIONNAT

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)
Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR
2^{ème} sous-section : (Physiologie)
Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUÉL – Professeur Christian BEYAERT
3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)
Professeur Ali DALLOUL
4^{ème} sous-section : (Nutrition)
Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT – Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)
Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI
3^{ème} sous-section : (Maladies infectieuses ; maladies tropicales)
Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Épidémiologie, économie de la santé et prévention)
Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN
Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA
2^{ème} sous-section : (Médecine et santé au travail)
Professeur Christophe PARIS
3^{ème} sous-section : (Médecine légale et droit de la santé)
Professeur Henry COUDANE
4^{ème} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)
Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUSSON

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Hématologie ; transfusion)
Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI
Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER
2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)
Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY
Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL
3^{ème} sous-section : (Immunologie)
Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE
4^{ème} sous-section : (Génétique)
Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)
Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ
Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT – Professeur Thomas FUCHS-BUDER
2^{ème} sous-section : (Réanimation médicale ; médecine d'urgence)
Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT

Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT
3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)
Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET
4^{ème} sous-section : (Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)
Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49^{ème} Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1^{ère} sous-section : (Neurologie)
Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI
Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE – Professeur Luc TAILLANDIER
2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)
Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE – Professeur Olivier KLEIN
Professeur Thierry CIVIT
3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)
Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN
4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie ; addictologie)
Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH
5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)
Professeur Jean PAYSANT

50^{ème} Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)
Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE
2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)
Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD
Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS
3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)
Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD
4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)
Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)
Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT
2^{ème} sous-section : (Cardiologie)
Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL
Professeur Christian de CHILLOU
3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)
Professeur Jean-Pierre VILLEMOT - Professeur Jean-Pierre CARTEAUX
4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)
Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)
Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET
2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)
3^{ème} sous-section : (Néphrologie)
Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT
4^{ème} sous-section : (Urologie)
Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)
Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY
Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME
2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER

Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteur Aude BRESSENOT

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{ère} sous-section : (Biophysique et médecine nucléaire)

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2^{ème} sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Docteur Damien MANDRY

44^{ème} Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{ère} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT

Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND

Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3^{ème} sous-section : (Biologie Cellulaire)

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

4^{ème} sous-section : (Nutrition)

Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)

Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT

3^{ème} sous-section (Médecine légale et droit de la santé)

Docteur Laurent MARTRILLE

4^{ère} sous-section : (Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)

Docteur Nicolas JAY

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

2^{ème} sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie : oncologie (type mixte : biologique))

Docteur Lina BOLOTINE

3^{ème} sous-section : (Immunologie)

Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT

4^{ème} sous-section : (Génétique)

Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

3^{ème} sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50^{ème} Section : RHUMATOLOGIE

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Docteur Anne-Christine RAT

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

**54^{ème} Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE,
ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

3^{ème} sous-section :

Docteur Olivier MOREL

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRE DE CONFÉRENCES DE MÉDECINE GÉNÉRALE

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)

Docteur Elisabeth STEYER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE
Monsieur Vincent LHUILLIER

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-François COLLIN

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

61^{ème} section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL
Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY
Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA
Madame Nathalie MERCIER

66^{ème} section : PHYSIOLOGIE
Monsieur Nguyen TRAN

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

=====

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale

Professeur associé Alain AUBREGE
Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Jean-Marc BOIVIN
Docteur Jean-Louis ADAM
Docteur Paolo DI PATRIZIO
Docteur Sophie SIEGRIST

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY – Professeur Patrick BOISSEL
Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ – Professeur Simone
GILGENKRANTZ Professeur Michèle KESSLER - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Alain LARCAN
Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS
Professeur Luc PICARD - Professeur Michel PIERSON - Professeur Jacques POUREL – Professeur Jean-François STOLTZ
Professeur Michel STRICKER - Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Colette



DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)

Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-
PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
*Centre Universitaire de Formation et de
Perfectionnement des Professionnels de Santé
d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)*
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

A notre Maître et Président de thèse,

Monsieur le Professeur Philippe JUDLIN

Professeur en Gynécologie-Obstétrique

Vous nous faites l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse et nous vous en remercions.

Nous avons apprécié votre bienveillance tout au long de notre internat et vous remercions de la confiance que vous nous accordez. Votre rigueur dans le travail et votre gentillesse ont suscité notre admiration.

Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre considération et de notre plus profond respect.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Jean Louis BOUTROY

Professeur en Gynécologie-Obstétrique

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Nous vous sommes reconnaissants pour votre accueil dans la spécialité et votre disponibilité, ainsi que votre soutien tout au long de notre internat.

Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre gratitude et de notre plus profond respect.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Jean Marie VIGNAUD

Professeur en Cytologie et Anatomie Pathologique

Nous vous remercions de participer au jugement de notre travail.

Par la compétence que nous vous connaissons, votre accueil et votre gentillesse, nous vous exprimons notre reconnaissance et notre respect.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Docteur Olivier Morel

Maître de Conférences en Gynécologie-Obstétrique

Vous nous faites l'honneur d'accepter de juger notre travail.

Pour le dynamisme et l'enthousiasme que nous vous connaissons, nous vous exprimons notre gratitude et notre respect.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Docteur Thierry ROUTIOT

Docteur en Médecine

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail.

Nous vous remercions de l'avoir dirigé et de nous avoir encouragé tout au long de sa réalisation.

Nous vous remercions pour votre enseignement, vos conseils avisés, votre soutien tout au long de l'internat, et votre joie de vivre.

Veillez trouver dans ce travail, l'expression de notre gratitude et notre respect.

A Mme FRESSON et toute l'équipe du D.I.M,

Un grand merci pour votre aide précieuse, votre disponibilité et votre écoute.

A Mme MARIE et Mr GAUCHOTTE du service de Cytologie et d'Anatomie Pathologique du CHU de Nancy,

Je vous remercie de votre accueil chaleureux et de votre aide dans la réalisation de ce travail.

A tous les gynécologues et médecins généralistes qui ont participé à notre travail,

Nous vous remercions de votre aide et de vos encouragements.

Aux équipes des services de Gynécologie et obstétrique de la Maternité Régionale de Nancy, de l'Hôpital Maternité de Metz et de l'Hôpital Bel Air (Thionville),

Aux équipes des services de Chirurgie de l'Hôpital Legouest (Metz) et l'Hôpital Saint Charles (Toul),

Merci pour votre soutien, votre disponibilité, votre gentillesse, merci de m'avoir guidé, conseillé et corrigé tout au long de ma formation.

A l'ensemble de l'équipe d'AMP de Metz,

Merci de votre accueil au sein de l'équipe,

Un grand merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et vos précieux conseils,

Merci d'avoir cru en moi,

La « *Ragage, Lestrade et biensûre Schweitzer vision* » m'a complètement conquise.

.

A tous les praticiens, auprès desquels j'ai tant grandi, avec qui j'ai passé tant de bons moments tout au long de mon cursus.

A tous mes collègues et amis internes, assistants et chefs de cliniques, les moments passés ensemble resteront inoubliables.

A ma petite fille Lina,

Mon trésor, quel bonheur de t'avoir, tu remplis mon cœur de joie depuis le premier jour où tu es venue au monde.

A mes parents,

Sans qui tout cela n'aurait pas été possible,

Pour votre force de vie incroyable, merci pour votre présence, votre amour et soutien.

A mon frère et ma soso,

Merci de votre patience.

A mes grands-parents,

Votre place restera grande.

A toute ma famille,

Merci pour votre soutien dans les bons mais aussi les mauvais moments.

A tous mes amis,

Merci pour votre amitié, votre bonne humeur, pour tout ce que l'on a vécu ensemble,

Merci pour votre patience à toutes épreuves...

A tous ceux que j'oublie,

Un grand merci.

Serment

« Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux, Je respecterai toutes les personnes leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif au gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION.....	22
II. ÉTAT DES CONNAISSANCES ET POSITION DU PROBLÈME.....	24
A. ÉPIDEMIOLOGIE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS.....	25
1. SITUATION MONDIALE DU CANCER DU COL.....	25
2. SITUATION EUROPEENNE DU CANCER DU COL.....	26
3. SITUATION EN FRANCE DU CANCER DU COL.....	27
B. HISTOIRE NATURELLE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS..	30
1. L'INFECTION A PAPILOMAVIRUS HUMAIN (HPV).....	31
a. Bases virologiques.....	31
b. Caractéristiques et Mécanismes physiopathologiques.....	34
c. Prévalence de l'infection HPV.....	39
2. CARCINOGENESE ET LESIONS PRECANCEREUSES CERVICALES.....	43
3. ANATOMOPATHOLOGIE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS.....	48
C. DEPISTAGE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS EN FRANCE	49
1. DEPISTAGE INDIVIDUEL.....	50
2. DEPISTAGE « ORGANISE».....	52
3. PREVENTION DU CANCER DU COL DE L'UTERUS : LA VACCINATION.....	54
D. MOYENS DIAGNOSTIQUES DES LESIONS PRECANCEREUSES.....	58
1. FROTTIS CERVICO-UTERIN.....	57
a. frottis conventionnel.....	57
b. frottis en milieu liquide.....	59
2. TEST HPV.....	62
3. COLPOSCOPIE.....	68
4. BIOPSIE CERVICALE ET EXAMENS HISTOLOGIQUES.....	72
5. CONCORDANCE CYTO-COLPO-HISTOLOGIQUE.....	73
a. Concordance cyto-colposcopique.....	73

b. Concordance colpo-histologique.....	75
c. Concordance histologique entre biopsie et pièce d'exérèse cervicale.....	77
E. IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE P16INK4a.....	79
1. PHYSIOPATHOLOGIE.....	79
2. ASPECTS TECHNIQUES EN IMMUNOHISTOCHIMIE.....	84
3. INTERPRETATION MICROSCOPIQUE EN IMMUNOHISTOCHIMIE.....	87
4. AUGMENTATION DE LA CONCORDANCE INTER-OBSERVATEURS ET LA JUSTESSE DU DIAGNOSTIC DES CIN2 ET CIN3.....	87
5. UTILISATION DE LA PROTEINE P16NK4a COMME MARQUEUR PREDICTIF DE PROGRESSION DES CIN1.....	92
6. UTILISATION DE LA P16INK4a EN IMMUNOCYTOCHIMIE DANS LE TRI DES FROTTIS ASC-US POUR LE DIAGNOSTIC DE CIN2.....	95
F. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES LESIONS PRECANCEREUSES.....	102
G. PRONOSTIC THERAPEUTIQUE DES LESIONS PRECANCEREUSES.....	104
III. MATERIEL ET METHODE.....	107
A. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	108
1. LES OBJECTIFS PRINCIPAUX DE L'ETUDE.....	108
2. LES OBJECTIFS SECONDAIRES DE L'ETUDE.....	108
B. RECUEIL DES DONNEES.....	109
1. RECUEIL DES DONNEES A LA MATERNITE REGIONALE DE NANCY.....	109
2. RECUEIL DES DONNEES DU SUIVI POST CONISATION.....	111
C. ANALYSE STATISTIQUE.....	111
IV. RÉSULTATS.....	112
A. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION SELECTIONNEE..	113
1. L'AGE.....	113
2. LA PARITE.....	113
3. L'ORIGINE GEOGRAPHIQUE.....	113
4. ANTECEDENTS DE DYSPLASIE CERVICALE.....	114

B. ANALYSE DESCRIPTIVE DES EXPLORATIONS REALISEES	
EN AMONT DE LA CONISATION.....	114
1. ANALYSE CYTOLOGIQUE.....	114
2. ANALYSE COLPOSCOPIQUE	115
a. Jonction squamo-cylindrique.....	115
b. Résultats colposcopiques.....	115
c. Etendue des anomalies colposcopiques.....	116
3. TYPAGE HPV.....	116
4. EXAMEN HISTOLOGIQUE A LA BIOPSIE CERVICALE.....	117
5. IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE p16INK4a A LA BIOPSIE	
CERVICALE.....	118
6. DELAIS DE PRISE EN CHARGE.....	118
C. RESULTATS HISTOLOGIQUES SUR PIECE DE CONISATION..	118
1. TECHNIQUE DE CONISATION.....	118
2. ANALYSE HISTOLOGIQUE NUCLEIO-CYTOPLASMIQUE.....	119
a. Evaluation morphologique après coloration à l'hématoxyline-éosine.....	119
b. Limites d'exérèses de la lésion.....	119
2. IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE p16INK4a	120
D. ANALYSE DE LA CONCORDANCE ENTRE LA CYTOLOGIE,	
LA COLPOSCOPIE ET L'HISTOLOGIE PRE-CONISATION.....	120
1. RELATION CYTO-COLPOSCOPIQUE.....	120
2. RELATION CYTO-HISTOLOGIQUE.....	122
3. RELATION COLPO-HISTOLOGIQUE.....	124
4. RELATION ENTRE RESULTATS HISTOLOGIQUES SUR BIOPSIES	
CERVICALES ET PIECES DE CONISATIONS.....	128
E. INTERET DIAGNOSTIQUE DE L'IMMUNOMARQUAGE DE	
LA PROTEINE p16INK4A A LA BIOPSIE CERVICALE.....	130
F. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE L'AGE ET LA	
PARITE DES PATIENTES ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A	
LA CONISATION.....	135

G. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE UN ANTECEDANT DE FCU ANORMAL ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A LA CONISATION.....	137
H. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE LE TYPAGE HPV ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A LA CONISATION.....	138
I. SUIVI POST-CONISATION.....	138
1. COMPLICATIONS PRECOCES.....	139
2. COMPLICATIONS A DISTANCE.....	139
a. Durée moyenne de suivi.....	140
b. Sténoses.....	140
c. Récidive de dysplasie cervicale.....	141
3. RELATION ENTRE LA RECIDIVE DE DYSPLASIE ET LE RESULTAT HISTOLOGIQUE A LA CONISATION.....	144
J. TABLEAUX RECAPITULATIFS DES RESULTATS.....	145
V. DISCUSSION.....	147
VI. CONCLUSION.....	158
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	160
TABLE DES ILLUSTRATIONS: FIGURES.....	175
TABLE DES ILLUSTRATIONS: TABLEAUX.....	177
TABLE DES ILLUSTRATIONS: ANNEXES.....	180
Liste des abréviations utilisées.....	184
RÉSUMÉ DE THÈSE EN ANGLAIS	187

I. INTRODUCTION

Le cancer du col de l'utérus est une pathologie majoritairement d'origine infectieuse liée à l'infection par l'Human Papilloma Virus (HPV). Près de 2/3 des femmes ayant une activité sexuelle sont en contact avec ce virus, mais seules 1 à 2 % de celles contaminées par celui-ci vont développer un cancer du col de l'utérus. Le cancer se développe sur une période de 5 à 15 ans après l'infection par le virus. Le cancer du col de l'utérus est au deuxième rang des cancers dans le monde après le cancer du sein chez la femme, en terme d'incidence et au premier rang en terme de mortalité, principalement dans les pays en voie de développement [1]. En France, le cancer du col de l'utérus est le dixième cancer chez la femme par sa fréquence, avec 3 068 nouveaux cas estimés et environ 1 067 femmes meurent chaque année, selon les études épidémiologiques réalisées en 2005 [2]. Dans les pays industrialisés, l'amélioration des conditions d'hygiène de vie, ainsi que l'apparition il y a une cinquantaine d'années d'un test cytologique de dépistage, le frottis cervico-utérin (FCU), ont permis de faire chuter l'incidence et la mortalité de ce cancer. C'est un candidat idéal au dépistage par son évolution lente et l'existence de nombreuses lésions précancéreuses curables. Cependant, une proportion non négligeable de femmes ne se fait encore peu ou pas dépister. Ces lésions précancéreuses sont diagnostiquées chez des femmes de plus en plus jeunes alors que l'âge de la première grossesse augmente. Le diagnostic de ces lésions précancéreuses souffre d'une mauvaise concordance des différentes explorations cyto-colpo-histologiques précédant l'acte thérapeutique [3]. Or le traitement de ces lésions peut entraîner des effets secondaires néfastes sur le pronostic obstétrical. L'introduction de biomarqueurs tels que la protéine p16INK4a lors de l'examen histologique sur biopsie cervicale, permet d'augmenter la justesse du diagnostic posé et préciser le potentiel évolutif de chaque lésion afin de réserver les traitements aux véritables lésions précancéreuses [4].

Nous réaliserons dans un premier temps, une revue de la littérature, sur la démarche diagnostique des néoplasies intra-épithéliales du col de l'utérus, ses difficultés et ses nouveaux outils. Nous nous intéresserons en particulier à un des biomarqueurs qu'est la protéine p16INK4a. Dans une deuxième partie, nous exposerons une étude rétrospective réalisée chez 396 patientes prises en charge à la Maternité Régionale Universitaire de Nancy de Janvier 2007 à Décembre 2009, pour dysplasie cervicale, afin d'évaluer la concordance des examens cyto-colpo-histologiques ayant abouti à la réalisation d'une conisation thérapeutique, ainsi que l'évaluation de la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a dans notre population. A travers le suivi de ces patientes, nous évaluerons leurs complications à long terme notamment à type de récurrences de dysplasies post conisation.

II. ETAT DES CONNAISSANCES ET POSITION DU PROBLEME

L'épidémiologie du cancer du col de l'utérus est très variable d'un pays à l'autre. Celle-ci dépend essentiellement de la présence ou non de campagnes de dépistage, mais aussi du taux de maladies sexuellement transmissibles. La réalisation de frottis cervico-utérins a permis une nette diminution de l'incidence et de la mortalité de cette pathologie.

A. EPIDEMIOLOGIE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

1. SITUATION MONDIALE DU CANCER DU COL

Dans le monde, le cancer du col est le deuxième plus fréquent des cancers de la femme, après le cancer du sein, soit près de 493000 nouveaux cas estimés en 2002, et plus de 500000 en 2005 [5]. Le cancer du col de l'utérus a provoqué en 2005 près de 260000 décès, dont près de 95% dans les pays en développement, pays dans lesquels ce cancer est la première cause de mortalité par cancer dans la population féminine [6]. Il existe une grande inégalité de répartition de l'incidence selon les pays, au bénéfice des pays industrialisés. 83% des nouveaux cas de cancers du col surviennent dans les pays en voie de développement avec les incidences les plus élevées situées en Amérique du Sud, Caraïbes, Afrique Subsaharienne, Asie méridionale et du Sud-est. Le taux d'incidence standardisé (sur la structure d'âge de la population mondiale) varie de 2,1 (Egypte) à 47,3 (Zimbabwe) cancers invasifs pour 100 000 femmes selon les pays [6].

Le risque d'être atteint d'un cancer du col utérin au cours de la vie est estimé à 4% dans les pays en voie de développement et inférieur à 1% dans les pays industrialisés [2-7]. Aux États-Unis, en 2002, 13 000 cancers du col utérin ont été diagnostiqués et 4 000 patientes sont décédées de cette pathologie [8].

La figure 1 illustre les disparités géographiques mondiales de l'incidence du cancer du col (Figure 1).

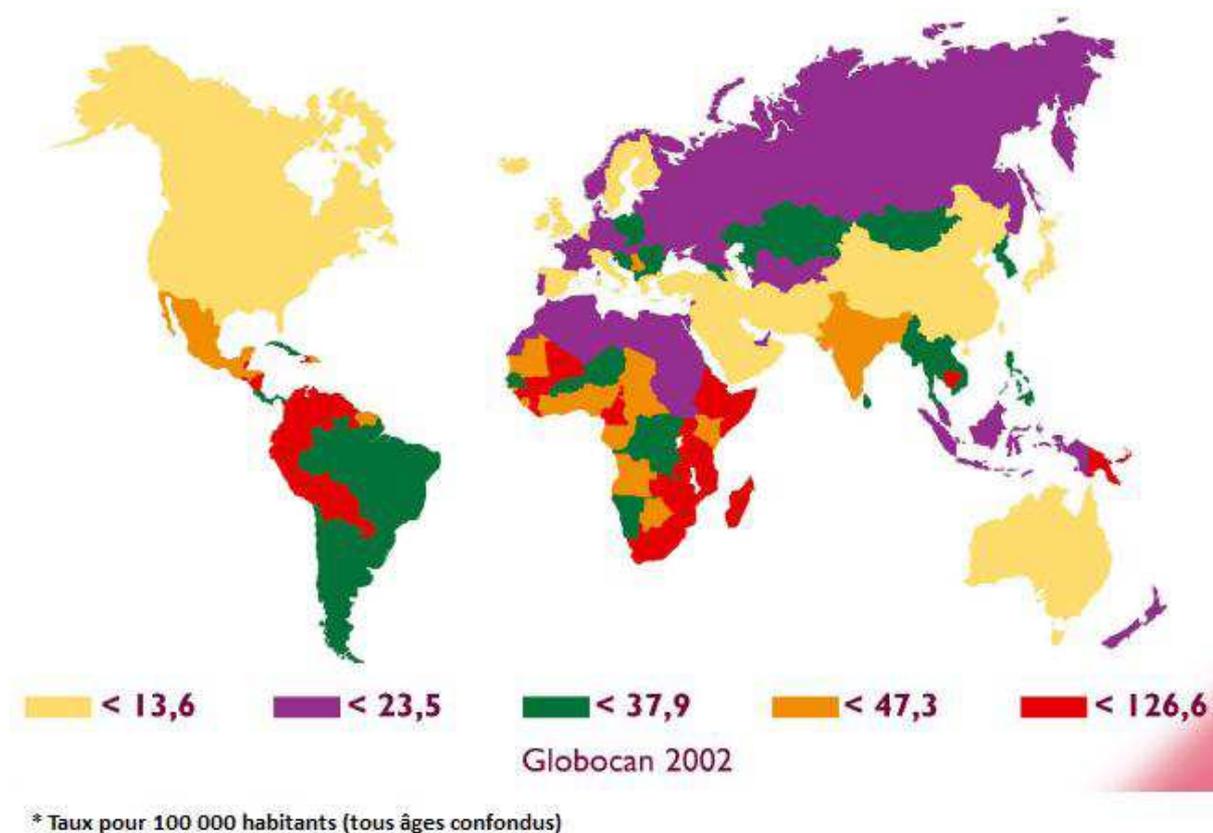


Figure 1 – Incidence du cancer du col de l’utérus dans le monde d’après Globocan en 2002 [1].

2. SITUATION EUROPEENNE DU CANCER DU COL

Dans l’Union Européenne, en 2004 il a été estimé à 30400 le nombre de nouveaux cas de cancer invasifs du col de l’utérus (neuvième cancer chez la femme) et à 13500 le nombre de décès dûs à ce cancer (douzième position chez la femme) [6].

La situation est hétérogène selon les pays. Le taux d’incidence standardisé (sur la structure d’âge de la population mondiale) varie de 4 (Finlande) à 12,9 (Autriche) cancers par 100000 femmes selon les pays. Globalement, la France a une incidence et une mortalité comparable à la moyenne des 25 premiers Etats membres de l’Union européenne, en termes d’incidence (onzième position) et de mortalité (neuvième position) [9].

La figure 2 illustre la comparaison au sein de l’Union européenne de l’incidence et de la mortalité du cancer du col utérin entre la France et ses voisins européens [1].

TAUX D'INCIDENCE ET DE MORTALITE PAR CANCER DU COL EN FONCTION DE L'AGE dans des populations sélectionnées

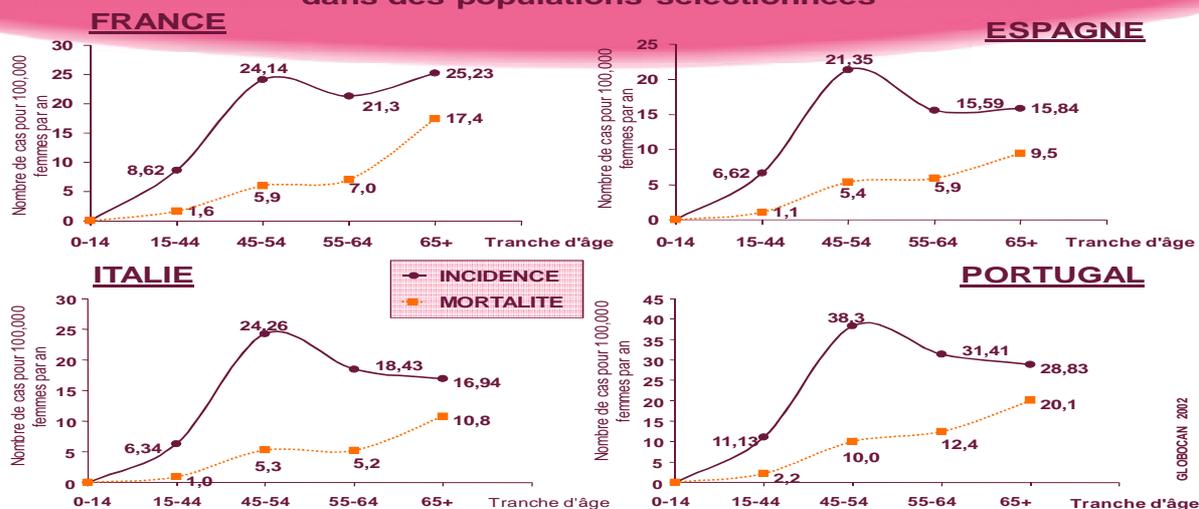


Figure 2 – Incidence et Mortalité du cancer du col de l'utérus dans les pays Européens d'après Globocan en 2002 [1].

3. SITUATION EN FRANCE DU CANCER DU COL

En France, le cancer du col de l'utérus est le dixième cancer chez la femme par sa fréquence, avec 3068 cas estimés pour l'année 2005, et le neuvième lorsque l'on considère le taux d'incidence standardisé (standardisation sur la population mondiale) qui est estimé à 7.1 pour 100000 femmes en 2005 [10]. Le pic d'incidence est à 40 ans. En 2005, le cancer du col de l'utérus est le quinzième cancer le plus meurtrier chez la femme avec 1 067 décès estimés, et au douzième rang si l'on considère le taux de mortalité standardisé (monde) qui est estimé à 1.9 pour 100000 femmes. Le pic de mortalité est à 50 ans [2-10].

Le taux d'incidence du cancer du col de l'utérus n'a cessé de diminuer depuis 1978 et 2005, avec un taux annuel moyen de décroissance de 2,9 %. Dans le même temps, la mortalité a diminué en moyenne de 4,4 % par an (Figure 3). Toutefois, cette décroissance a tendance à se ralentir depuis 2000. Entre 2000 et 2005, la décroissance moyenne annuelle du taux d'incidence était de 1,8% et celle du taux de mortalité de 3,2% [11]. Ces baisses constantes sont très vraisemblablement expliquées en grande partie par la pratique largement répandue du dépistage par frottis cervico-utérins. La diffusion des pratiques vaccinales contre le papillomavirus devrait contribuer à l'amélioration de la situation au niveau international.

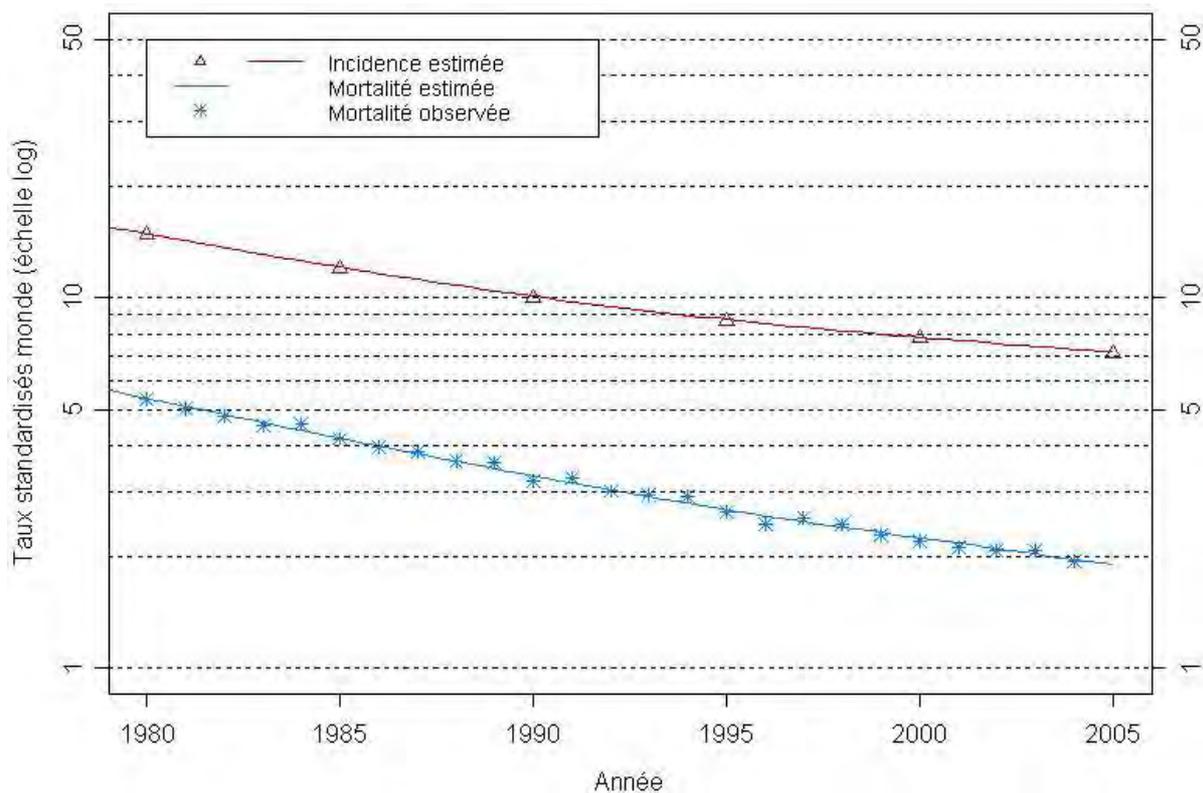


Figure 3 – Tendances chronologiques des taux d'incidence et de mortalité du cancer du col de l'utérus (cancer invasif et micro-invasif) en France (standardisation sur la population mondiale) [11].

La répartition du cancer du col est très variable en fonction de l'âge: l'incidence est en augmentation régulière à partir de 20 ans et jusqu'à la tranche d'âge 40-44 ans avec un pic vers 40 ans avec des taux atteignant 21 cas pour 100000, suivi d'une diminution jusqu'à 60 ans. L'incidence se stabilise alors autour de 12 cas pour 100 000 jusqu'à 75 ans puis augmente de nouveau avec un pic à 85 ans où l'on note des taux de 15 cas pour 100 000. L'incidence diminue ensuite jusqu'aux âges les plus élevés. L'âge moyen du diagnostic est de 51 ans [12]. L'augmentation de l'incidence à 40-44 ans témoigne de l'efficacité du dépistage. La différence entre les deux courbes à 65-69 ans reflète le résultat des traitements. En effet, les traitements appliqués aux CIN2/3 ont une efficacité proche de 100% [13].

La mortalité est très faible chez les femmes de moins de 70 ans (moins de 5 décès pour 100 000 femmes), elle augmente ensuite régulièrement pour atteindre 15 décès pour 100 000 chez les femmes de 85 ans et plus (Figure 4) [11].

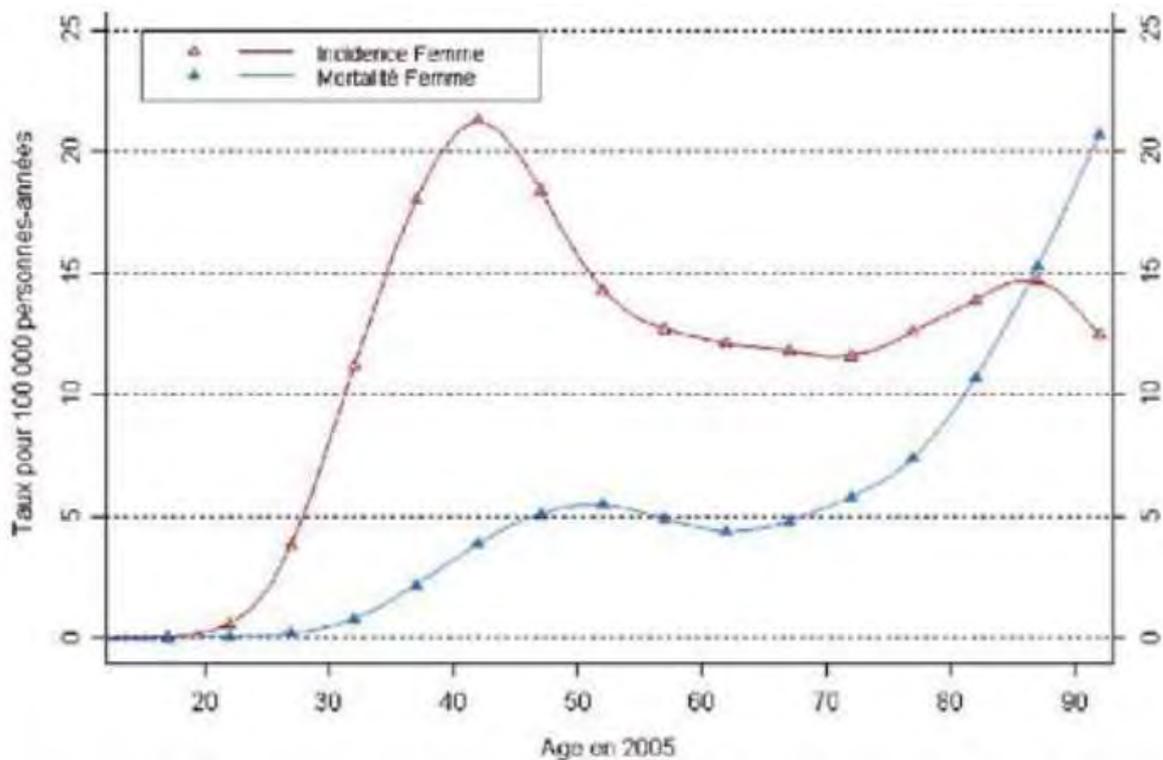


Figure 4– Taux d'incidence et de mortalité par âge en 2005 (courbes transversales) en France – taux bruts [11].

En 2007, les registres du réseau cancer Francim ont publié les résultats de la survie à 5 ans des patientes atteintes de cancer diagnostiqué entre 1989 et 1997. La survie relative était de 75% à 3 ans et de 70% à 5 ans. Elle était étroitement liée au stade FIGO du cancer du col utérin (Figure 5) [14] et diminuait avec l'âge [11] :

- 82% à 5 ans chez les femmes de 15-44 ans
- 38% à 5 ans chez les femmes de 75 ans et plus.

La baisse d'incidence du Cancer du col utérin s'explique non seulement par le développement du dépistage par frottis cervico-utérin, mais aussi par la réduction graduelle de la fertilité des femmes (parité plus faible) et l'amélioration de l'hygiène de vie occidentale [15].

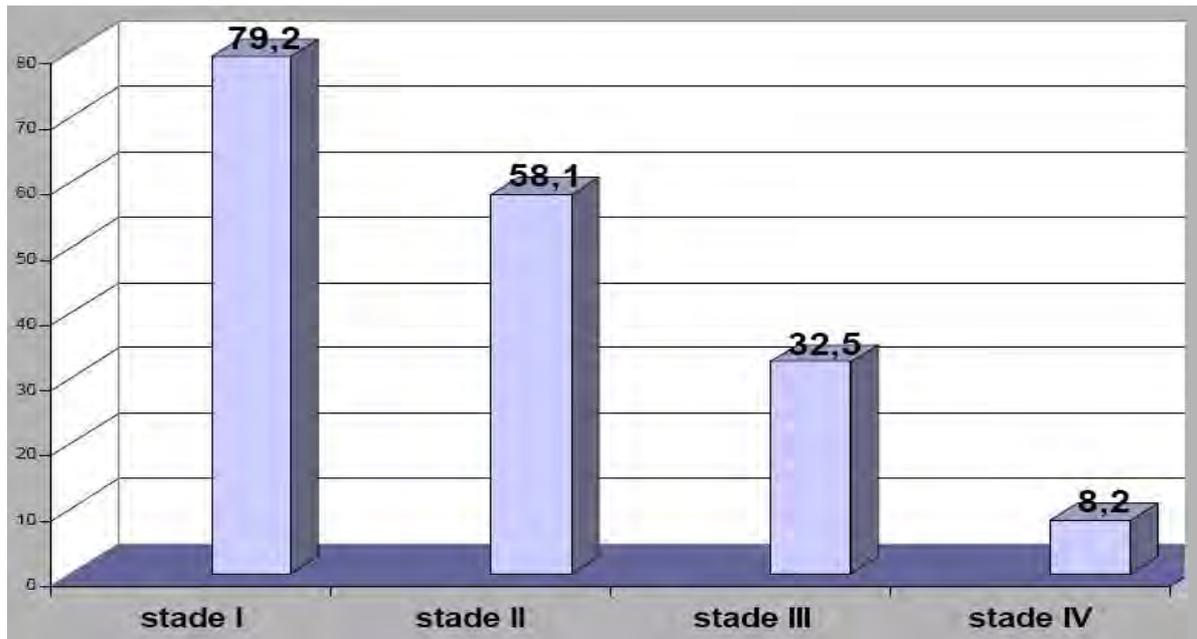


Figure 5 – Survie relative à 5 ans pour les différents stades du cancer du col de l’utérus (Classification FIGO) [14].

L'ensemble de ces données épidémiologiques montre bien l'importance de cette pathologie. Il s'agit, en effet, d'un cancer de la femme jeune, dont la fréquence et la gravité en font un réel problème de santé publique à l'échelon mondial. En France, les politiques ont saisi l'importance du problème et se sont fixés pour objectif, dans la Loi relative à la politique de santé publique du 9 août 2004 (Objectif 48), de : « [...] Poursuivre la baisse de l'incidence de 2,5 % par an, notamment par l'atteinte d'un taux de couverture du dépistage de 80 % pour les femmes de 25 à 65 ans et l'utilisation du test HPV » [16]. Cette prévention secondaire, dont l'efficacité n'est plus à démontrer, peut maintenant, depuis la commercialisation d'un vaccin prophylactique, s'assortir d'une prévention primaire de qualité. Ces deux outils sont capitaux dans la prise en charge des pathologies cervicales.

B. HISTOIRE NATURELLE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

Actuellement, nous avons une idée un peu plus précise de la physiopathologie des cancers du col. Il a en effet été démontré en 1999, par Walboomers [17], que le Papillomavirus Humain est un facteur étiopathogénique nécessaire [18], mais non suffisant dans la carcinogénèse cervicale. Il est retrouvé dans 99,7 % des cancers du col de l'utérus [19, 20]. La persistance du virus dans l'épithélium cervical, en particulier chez les femmes âgées de plus de 30 ans, est le

plus important facteur de risque de développement des lésions dysplasiques et du cancer du col. En France, parmi les femmes adultes, 10% présenteront une infection génitale à HPV à haut risque oncogène, et parmi ces femmes, 10% vont présenter une infection persistante qui, dans 1% des cas, entraînera un cancer cervical invasif [21] (Figure 6).

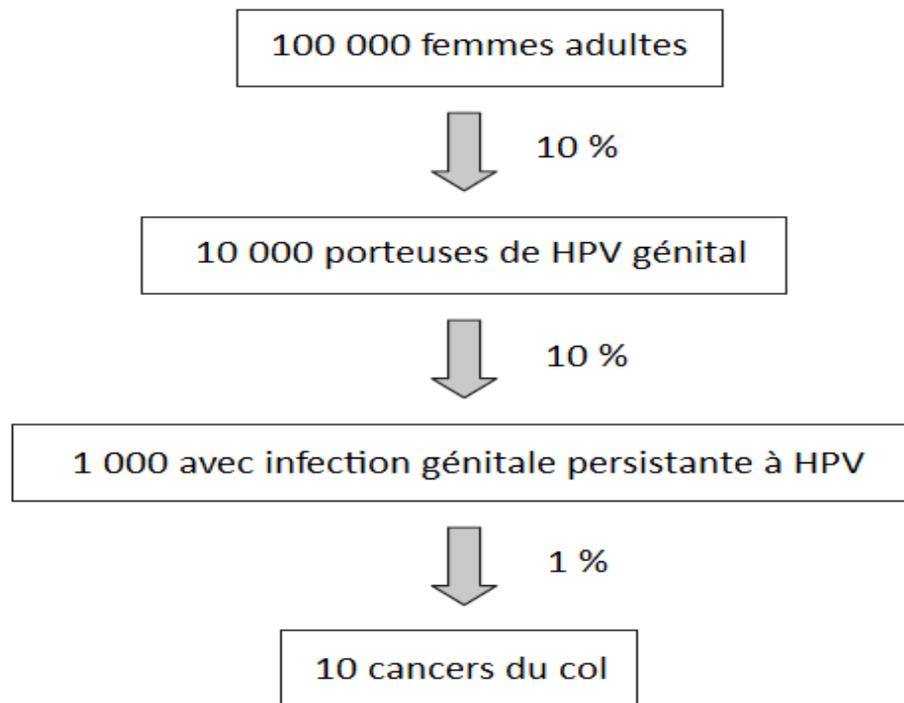


Figure 6 – Evolution vers un cancer du col utérin à partir d’une infection à HPV [21].

1. L’INFECTION AU PIPILLOMAVIRUS HUMAIN (HPV)

a. Bases virologiques

Les HPV sont des virus appartenant à la famille des Papillomaviridae. Les papillomavirus sont des virus ubiquitaires, très anciens et très stables, qui ont évolué avec leurs hôtes respectifs [22]. Beaucoup d'espèces animales abritent des papillomavirus telles que les bovins, les caprins, les équins, les rongeurs, les reptiles, les oiseaux et l'homme. Il n'a pas été rapporté de contamination croisée entre espèces animales, ce qui suggère que chaque papillomavirus est spécifique de son hôte. Les papillomavirus sont épithéliotropes et infectent les épithéliums cutanés et muqueux [23].

Ce sont des Virus de 52 à 55 nm de diamètre, non enveloppé, à symétrie icosaédrique avec 72 capsomères. Il s'agit de virus non cultivables et résistants, dont le génome est composé d'un Acide DésoxyriboNucléique (ADN) double brin circulaire, de 8000 paires de bases, avec un seul brin codant présentant trois régions génomiques (Figure 7) [24]. La région E (Early) comprend plusieurs cadres ouverts de lecture codant pour les protéines précoces non structurales E1, E2, et E4-E7, nécessaires à la réplication de l'ADN viral et à l'assemblage des nouvelles particules virales au sein des cellules infectées. La région L (Late) code pour les protéines structurales L1 et L2, composant la capside [25]. L1 représente la protéine majeure de la capside, E6 l'oncoprotéine de transformation se liant à la protéine p53, et E7 l'oncoprotéine de transformation se liant au gène Rb du rétinoblastome. Il existe une région non codante appelée LCR (long control region) qui contient principalement des séquences régulatrices de la réplication et de la transcription virale (Figure 8).

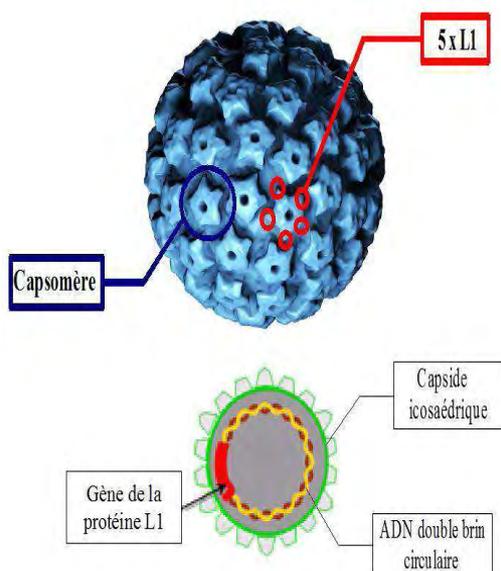


Figure 7 – Représentation schématique de la structure des Papillomavirus [24].

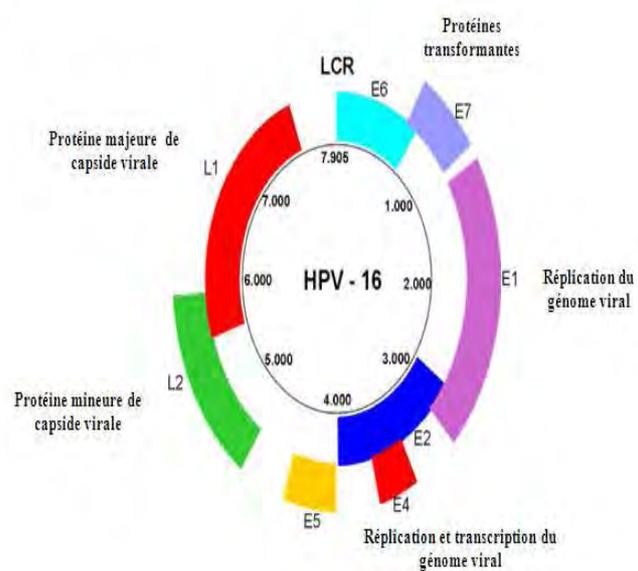


Figure 8 – Représentation schématique du génome des HPV 16 et 18 avec les rôles fonctionnels des protéines codées [25].

Le virus HPV exploite la machinerie cellulaire à son compte. Les particules infectent les cellules de la couche basale de l'épithélium cervical, au niveau de la zone de faiblesse que représente la jonction pavimento-cylindrique (jonction exocol - endocol). Le génome viral s'y réplique. Les protéines E1 et E2 sont essentielles à cette phase. L'aspect cytologique des

cellules ainsi infectées est celui de koilocytes, pathognomoniques de l'infection à HPV. Il s'agit de cellules malpighiennes possédant un halo clair périnucléaire, de taille importante et de contour irrégulier. Les bords de cette zone claire sont abrupts et le cytoplasme périphérique est souvent densifié. Le cytoplasme est basophile ou éosinophile. Le noyau est augmenté de taille. On peut observer des binucléations et quelques irrégularités des contours nucléaires. La chromatine est dense, homogène ou non.

<i>Protéine</i>	<i>Fonction</i>
E1	Activation de la réplication de l'ADN viral
E2	Localisation nucléaire : - Activation de la réplication de l'ADN viral en synergie avec E1 - Répression de la transcription d'E6 et E7 Localisation cytoplasmique : - Induction d'apoptose, d'instabilités génomiques
E3	Pas de fonction connue
E4	Maturation des virions, facilite l'encapsulation du génome
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire
E6	Protéine oncogène : favorise la dégradation de p53 par le protéasome
E7	Protéine oncogène : favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb
E8	Pas de fonction connue
L1	Protéine mineure de capsid
L2	Protéine mineure de capsid

Tableau 1 – Propriétés biologiques des protéines des papillomavirus à haut risque [23].

b. Caractéristiques et Mécanismes physiopathologiques

L'ADN à HPV est présent dans plus de 95% des cancers infiltrant, 90% des lésions de haut grade et 70% des lésions de bas grade. Le mécanisme de la carcinogénèse liée à l'HPV repose essentiellement sur l'intégration de séquences virales au génome cellulaire.

Les techniques de biochimie moléculaire ont permis de mettre en évidence plus de 200 génotypes de papillomavirus humains. Plus de 150 génotypes sont à spécificité humaine. Près de 100 génotypes ont été totalement séquencés et environ 45 génotypes de HPV à tropisme muqueux peuvent infecter la sphère anogénitale ; seuls 18 sont considérés à haut risque oncogène pour le col utérin dont 12 de façon bien établie. Parmi ceux-ci, 8 génotypes (par ordre de fréquence : 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58, 35) sont impliqués dans presque 90 % des cancers du col utérin [26].

<i>Tropisme des différents HPV</i>		<i>Types d'HPV les plus fréquents</i>	<i>Autres types d'HPV moins fréquents</i>	<i>Expression clinique</i>
<i>HPV cutanés</i>		1, 2, 3, 4, 10	26 à 29, 38, 41	Verrues plantaires
		5, 8	9, 10, 12, 14, 15, 17, 19 à 25	Epidermodysplasie Verruciforme
		5, 8, 14, 17, 20		Carcinomes épidermoïdes
<i>HPV muqueux</i>	<i>HPV - BR</i>	6, 11	42 à 45	- Condylomes acuminés - Papillomes laryngés, conjonctivaux, buccaux
	<i>HPV - HR</i>	16, 18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	- Cancer du col utérin et lésions précurseurs - Carcinomes : pénis, vulve, vagin, anus

Tableau 2 – Arbre phylogénique et Manifestations cliniques des principaux types d'HPV cutanés et muqueux [27].

Ainsi en fonction de leur tropisme (cutanés ou muqueux), de leur propriété biologique et de leur potentiel oncogénique, on peut classer les différents types d'HPV en HPV à haut risque oncogène, à risque oncogène probable, et à faible risque oncogène [28-29].

<i>Haut risque oncogène</i>	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
<i>Haut risque probable</i>	26, 53, 66, 68, 73, 82
<i>Faible risque oncogène</i>	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, CP6108

Tableau 3 – Classification des différents types d'HPV en fonction de leur pouvoir oncogène [29].

Concernant le mode de transmission des HPV, ils ont pour cible les kératinocytes basaux des épithéliums malpighiens pluristratifiés. Ils arrivent à leur cible grâce à une brèche de cet épithélium (micro- ou macrotraumatisme), habituellement au cours d'un rapport sexuel. La transmission sexuelle se fait essentiellement par contact direct entre muqueuses génitales. Mais tout acte sexuel, même sans pénétration (doigt-vulve, pénis-vulve), est associé à un risque d'infection par les HPV. Ainsi les adolescentes qui ont des pratiques sexuelles comme des attouchements, flirts et préliminaires sont à risque d'être infectées, même si elles n'ont pas encore eu de rapports sexuels avec pénétration. La transmission oro-génitale est également démontrée mais ne semble pas jouer un rôle important dans la transmission de la maladie. Le préservatif ne protège pas contre toutes les infections à papillomavirus. Toutefois une étude récente montre que son utilisation systématique lors des pénétrations permet de réduire significativement (70%) l'incidence de l'infection [27]. D'autres modes de transmission beaucoup moins fréquents ont été décrits (périnatal, autocontamination, objets souillés, mère enfant au cours de l'accouchement...) [30].

L'infection à HPV est l'une des trois principales infections sexuellement transmissibles (IST), avec les infections à Chlamydia trachomatis et les infections à Trichomonas vaginalis. Elle est la première IST d'origine virale avant l'herpès génital [26].

En fonction des études, la transmission d'une infection à HPV est estimée de 40 à 60% lors d'une pénétration sexuelle en cas de portage d'HPV par un des partenaires. Ce chiffre, est beaucoup plus élevé que pour les autres IST virales telles que celles à VIH ou à Herpès Simplex Virus 2, et se rapproche de la probabilité de transmission des IST bactériennes [31]. Les facteurs favorisant la transmission de HPV sont les mêmes que pour les autres IST, à savoir des partenaires sexuels multiples, un faible intervalle entre deux partenaires différents, un jeune âge au premier rapport, des antécédents de maladie sexuellement transmissibles, sont les principaux facteurs de risque de l'infection HPV.

La forte contagiosité du virus fait que 60 à 66% des partenaires sexuels de personnes infectées par un HPV développent des lésions cellulaires HPV induites. La durée d'incubation est en moyenne de 3 mois, mais elle peut aller jusqu'à 10 ans, rendant délicate l'identification de la période d'exposition.

La prévalence réelle de l'infection HPV est inconnue. La fréquence est maximale chez la femme jeune, atteignant 35% d'infection à HPV entre 20 et 30 ans, dont 7 à 10% par des types potentiellement oncogènes, et environ 10% d'infection après 35 ans, dont 2 à 4 % par des types potentiellement oncogènes. La durée moyenne d'infection est d'environ 8 mois, et le taux de disparition du génome viral est estimé à 70% à 12 mois et 90% à 24 mois [29].

Après transmission, les HPV vont infecter les cellules souches épithéliales présentes au niveau de la couche basale. Ces cellules sont capables d'auto-renouvellement, ce qui est nécessaire au maintien d'une infection virale chronique, et la progression du cycle de réplication virale s'effectue en parallèle de la différenciation des cellules souches de l'épithélium malpighien. Les nouvelles particules virales sont synthétisées dans les couches supérieures et sont libérées lorsque la couche cornée superficielle de l'épiderme est éliminée [32]. Plus précisément, le cycle viral se déroule selon le mode suivant. Les HPV se fixent tout d'abord sur des récepteurs cellulaires des kératinocytes. Les particules virales sont absorbées puis internalisées par endocytose. Les vésicules formées fusionnent ensuite avec des endosomes à pH acide. Les virions plus ou moins dégradés sont relâchés dans le cytosol. La taille des capsides de papillomavirus ne leur permet pas de diffuser passivement dans le cytosol. Elles doivent donc utiliser un processus actif impliquant le cytosquelette pour rejoindre le noyau. Grâce à la présence de séquences de localisation nucléaire sur la protéine L1 et la protéine L2, le transfert nucléaire peut ensuite avoir lieu. Mais, le diamètre de la capside des papillomavirus est de 55 nm alors que le diamètre fonctionnel du pore nucléaire est de 29 nm. Cette incapacité physique des capsides de papillomavirus à pénétrer dans le noyau suggère que le désassemblage de la capside en capsomères est nécessaire avant l'entrée du génome viral dans le noyau [33-34].

Au niveau de la couche basale de l'épithélium et après l'entrée du génome viral dans le noyau de la cellule hôte, celui-ci subit une phase d'amplification, sous le contrôle des protéines précoces E1 et E2, jusqu'à atteindre un nombre de 50 à 100 copies par cellule, ceci constitue la phase d'établissement. Cette **étape du cycle de multiplication est dite non productive** car il n'y a pas de production de virions, seuls les gènes précoces sont transcrits.

Vient ensuite une phase de maintenance des génomes viraux qui correspond au maintien d'un nombre constant de génomes d'HPV au fur et à mesure des divisions cellulaires. Elle est observée dans les couches basales et supra-basales de l'épithélium. Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille. Dans les épidermes non infectés par un virus, les cellules basales migrent vers les couches supra-basales où elles subissent un processus de différenciation. Elles arrêtent alors de proliférer, leur cycle cellulaire étant bloqué avant l'entrée en phase S. Au contraire, les cellules infectées par un papillomavirus subissent une phase de prolifération intense, induite par les protéines virales E6 et E7, lors de leur migration vers les couches supra-basales de l'épithélium, et le processus de différenciation est ainsi retardé. Les protéines E6 et E7 sont des oncogènes viraux qui stimulent la progression en phase S du cycle cellulaire. Au fur et à mesure que les cellules épithéliales se différencient, deux processus viraux sont enclenchés, l'amplification du génome viral et l'induction de la transcription des gènes tardifs. Les gènes tardifs sont transcrits en ARN codant pour les protéines de capsid. Une fois le génome viral répliqué dans le noyau, les protéines virales L1 et L2 nouvellement synthétisées dans le cytoplasme rejoignent le noyau où de nouveaux virions infectieux sont formés par encapsidation du génome. Les HPV n'étant pas des virus lytiques, la sortie des particules virales se fait via la zone de desquamation, lorsque la couche cornée superficielle de l'épiderme est éliminée. La muqueuse est alors très infectante et le risque de transmission des HPV est très important [35]. **Cette étape correspond donc à la phase productive puisque les virions sont formés.**

Le cycle viral décrit ci-dessus correspond à une infection productive. Les protéines E6-E7 sont produites en petites quantités, permettant leur contrôle. Ce sont surtout les gènes viraux impliqués dans la synthèse de la capsid qui sont exprimés. Les HPV arrivent à maturation et leur génome est toujours extrachromosomique. Lors d'une infection productive, les sujets développent des tumeurs bénignes appelées condylomes plans.

Lorsque la lésion devient une lésion de haut grade (dysplasie sévère = CIN 2/3 ou carcinome *in situ*), on assiste progressivement à l'expression des gènes viraux E6-E7. A ce stade, le contrôle intercellulaire (macrophages, immunité à médiation cellulaire) est perturbé. C'est alors qu'on constate l'intégration de l'ADN viral, des HPV dits à risque oncogène, au génome de la cellule hôte, ainsi que l'absence de production de particules virales et ce phénomène est toujours associé à la cancérisation.

Dans certains cas, l'ADN viral ne se réplique pas, ne s'intègre pas, et l'HPV persiste sous forme épisomale. On parle d'infections latentes asymptomatiques qui ne conduisent à aucune anomalie cytologique ou coloscopique. Ces infections latentes constituent des réservoirs viraux à partir desquels les HPV peuvent reprendre leur cycle de réplication suite à un événement extérieur (immunosuppression par exemple), s'intégrer et provoquer des lésions du Col utérin [36].

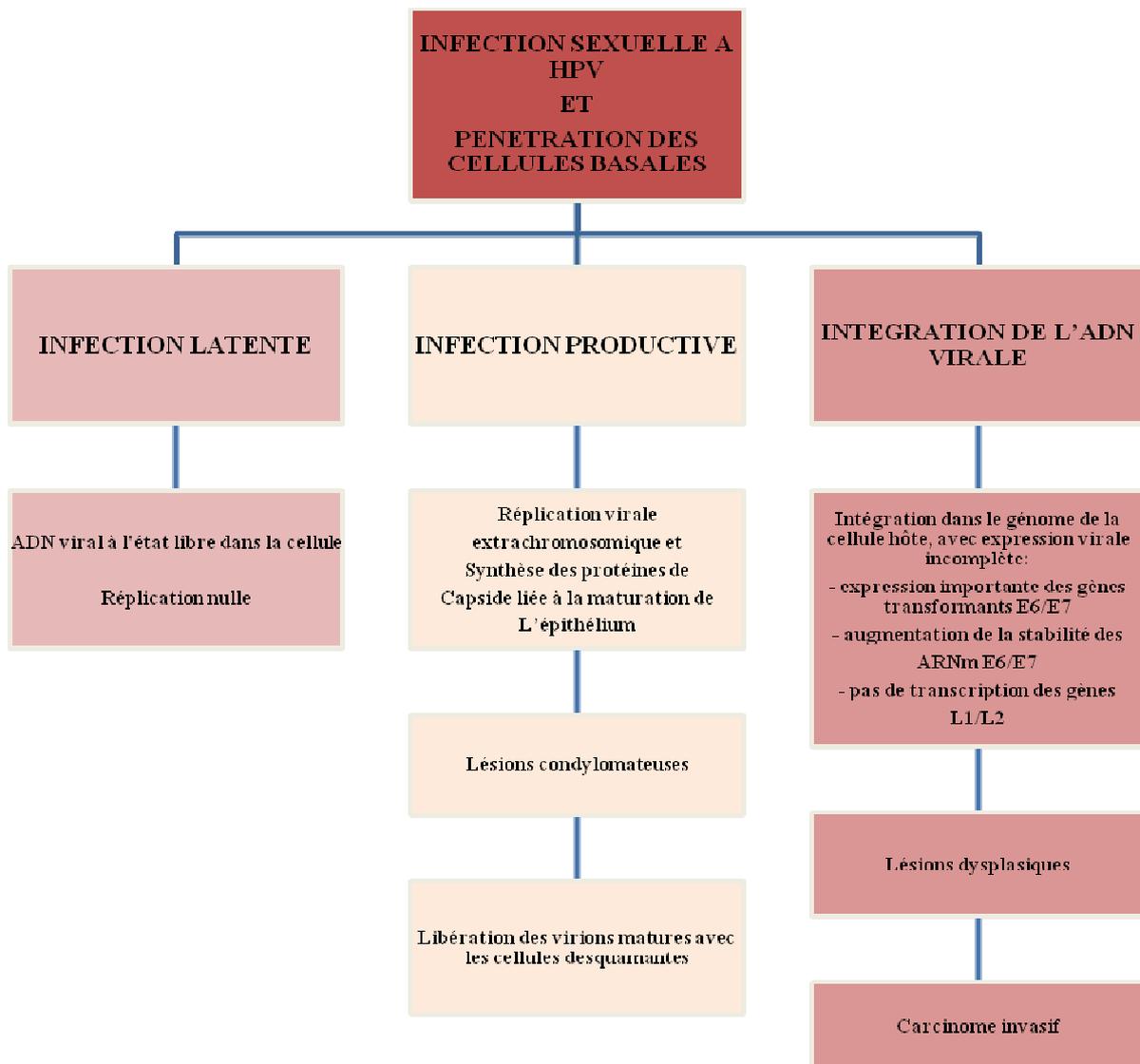


Figure 9 – Devenir des virus HPV après pénétration dans les cellules basales de l'épithélium du col utérin [35-36].

La majorité des infections du col de l'utérus à papillomavirus humain détectées par la présence d'ADN viral sont transitoires. Elles régressent spontanément dans un intervalle de 1

à 2 ans dans 70% à 90% des cas, ce qui correspond à la clairance virale [37-38-39]. La clairance est d'autant plus rapide que la patiente est jeune. Chez les femmes âgées de plus de 30 ans, l'ADN viral persiste plus longtemps [37].

L'infection chronique par HPV est un événement nécessaire mais non suffisant car moins de 5% des femmes infectées par HPV 16 développeront un cancer du col utérin au cours de leur vie. La définition de la persistance chronique de HPV est non consensuelle. En général, elle est définie par deux prélèvements positifs entre 12 et 18 mois d'intervalle [26].

Un cancer du col met en moyenne quinze ans à se développer après la persistance d'une infection d'HPV à haut risque [27].

c. Prévalence de l'infection à HPV

- Il existe une disparité de la prévalence de l'infection à HPV selon les pays

Le nombre de nouvelles infections génitales chez la femme par HPV dans le monde est estimé à 30 millions par an [27]. La répartition mondiale de la prévalence des infections à HPV diffère: les infections génitales à HPV affectent 660 millions de personnes avec la plus haute prévalence en Afrique sub-saharienne [40].

L'étude épidémiologique menée par l'international agency for research on cancer (IARC) sur 15000 femmes issues de 11 pays (Niger, Inde, Vietnam, Thaïlande, Corée, Colombie, Argentine, Chili, Pays Bas, Italie et Espagne), montre que tous âges confondus, la plus faible prévalence est retrouvée en Espagne (1,4%) et la plus élevée au Niger (25,6%). La prévalence en Amérique du sud (14,3%) est intermédiaire par rapport à l'Europe (10,5%) et l'Afrique (25,8%) [41].

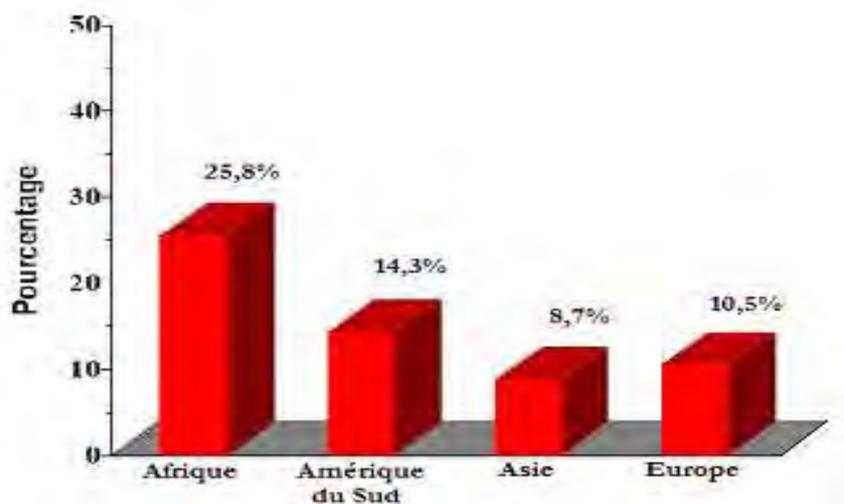


Figure 10 – Prévalence de l'infection à HPV dans le monde, tous âges et tous types de HPV confondus [41].

- Il existe une disparité de la prévalence de l'infection à HPV selon l'âge des patientes

Les différences entre les études rendent l'analyse complexe avec cependant des caractères communs.

On peut dire que l'infection à Papillomavirus touche les adolescentes et affecte les adultes avec une prévalence de l'infection à HPV variable en fonction de l'âge. Le risque cumulatif d'infection à HPV chez la jeune fille de 15-19 ans depuis le 1^{er} rapport sexuel est de 60% d'infections dans les 5 ans qui suivent les premiers rapports. Le pic de prévalence se situe entre 20 et 25 ans, cette prévalence diminue ensuite très sensiblement (Figure 11) [42]. Cette diminution du taux de prévalence avec l'âge reflète l'acquisition d'une immunité aux différents types d'HPV mais peut correspondre à la diminution du nombre de partenaires. Elle suggère qu'une grande proportion des infections à HPV est transitoire, dont le devenir va être la clairance dans 80% des cas. Ainsi, la détection de l'ADN des HPV chez la femme après 30 ans reflète souvent la persistance de l'infection. Ces femmes sont habituellement considérées comme le réel groupe à risque de cancer du col de l'utérus [27]. Un second pic est retrouvé vers 45-49 ans dont la signification n'est pas claire, il peut correspondre à la réactivation d'infections latentes, à de nouvelles infections à HPV acquises avec de nouveaux partenaires (augmentation de l'âge du mariage ainsi que l'augmentation du taux de divorces, amenant à l'acquisition de nouveaux partenaires sexuels aux âges intermédiaires) [43-44].

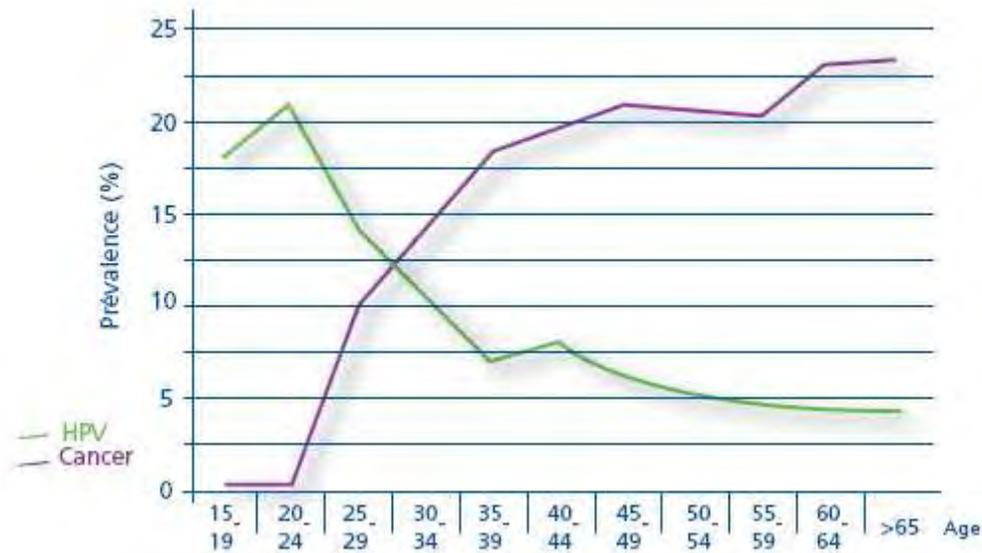


Figure 11 – Prévalence spécifique par classe d'âge de l'ADN des HPV à haut risque oncogène chez 3700 femmes à leur entrée dans un programme de dépistage, et incidences spécifiques par classe d'âge du cancer du col de l'utérus, aux Pays-Bas [42].

- Il existe une variabilité en fonction des populations selon les zones géographiques

La prévalence des génotypes impliqués dans le cancer du col utérin varie dans le monde en fonction des zones géographiques. Une étude de Munoz en 2003 [45], portant sur 1 918 patientes atteintes d'un cancer du col de l'utérus dans 9 pays a retrouvé une prévalence globale de HPV dans 90,7%. L'HPV 16 était le génotype retrouvé en premier dans tous les pays avec une prévalence globale de 58,9% mais variant de 43,9% aux Philippines à 72,4% au Maroc. L'HPV 18 était le second génotype retrouvé avec une prévalence globale de 15% variant de 3,7% en Espagne et 4,4% en Colombie à 27,9% aux Philippines. L'HPV 31 et 45 leur font suite (5% chacun) (Figure 13).

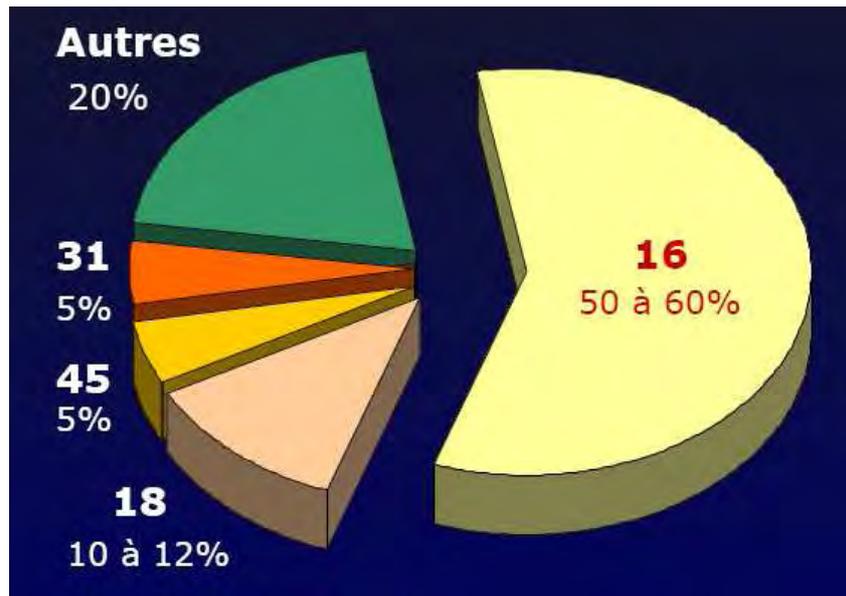


Figure 12 – Prévalence mondiale des différents types d'HPV [45].

- Importance des génotypes HPV16 et 18 en fonction du grade des lésions cervicales

La proportion d'HPV à haut risque oncogène est d'autant plus élevée que les anomalies cytologiques sont péjoratives. En France un ensemble d'études nommées EDITH (Etude de la Distribution des Types d'HPV) a été mené en France en 2006, avec la participation de l'industrie pharmaceutique, pour déterminer la distribution des génotypes d'HPV dans les cancers invasifs du col de l'utérus (EDITH I), les néoplasies intra-épithéliales de haut grade (EDITH II) et les lésions de bas grade du col de l'utérus (EDITH III). Une analyse des études EDITH I, publiée en juillet 2009 dans le BEH (Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire), met en avant une prévalence de 73% de HPV 16 et 19% pour HPV 18 dans les cancers invasifs. Cependant, ces chiffres incluent les infections multiples observées dans 22% des cancers, c'est-à-dire qu'ils incluent les cas de co-infections avec HPV 16 ou 18 et un autre HPV oncogène. Or le rôle possible de ces autres HPV oncogènes dans les cancers constatés ne peut être négligé. En cas de protection vaccinale contre les HPV 16 et 18, on ne peut exclure la possibilité de cancer invasif en lien avec ces autres HPV oncogènes présents. Donc en excluant les co-infections avec d'autres HPV à haut risque, les HPV 16 et 18 sont responsables de 71% des cancers, chiffre superposable aux chiffres obtenus dans les autres études (Tableau 4) [46-47-48].

<i>Lésions étudiées</i>	<i>EDITH I</i>	<i>EDITH II</i>	<i>EDITH III</i>
	<i>516 cancers</i>	<i>493 CIN 2/3</i>	<i>397 LSIL</i>
<i>Prévalence</i>	97%	98%	98%
<i>Age médian au diagnostic</i>	50 ans	37 ans	31 ans
<i>Infection avec un seul génotype</i>	75%	68%	48%
<i>HPV prédominant dans les infections avec un seul génotype</i>	HPV16 : 53%	HPV16 : 31%	HPV66 : 25%
	HPV18 : 8%	HPV31 : 8%	HPV16 : 21%
<i>Infection multiple</i>	22%	31%	50%

Tableau 4 – Distribution des génotypes d’HPV dans les cancers invasifs du col de l’utérus (EDITH I), les néoplasies intra-épithéliales de haut grade (EDITH II) et les lésions de bas grade du col de l’utérus (EDITH III) [49].

2. CARCINOGENESE ET LESIONS PRECANCEREUSES CERVICALES

La connaissance de la carcinogénèse du cancer du col proviennent d’études déjà anciennes, basées pour une large part sur le suivi de patientes ayant temporairement échappé à la surveillance.

Une très petite proportion seulement de femmes infectées par le HPV développe une néoplasie intra-épithéliale du col (CIN) de haut grade ou un cancer. La comparaison des incidences respectives permet d’estimer à 1-2% le risque de développement du cancer associé à l’infection HPV. Ces lésions se développent, à partir de la jonction squamo-cylindriques et de la zone de transformation anormale, suite à la persistance de l’infection à HPV dite à haut risque oncogène.

Le modèle physiopathologique le plus souvent admis du cancer du col de l’utérus est celui d’un continuum des lésions histologiques précancéreuses (CIN) au cancer du col de l’utérus, c'est-à-dire une évolution de l’épithélium malpighien normal vers une CIN1, puis vers une CIN2, puis vers une CIN3, pour finalement développer un carcinome invasif [50]. Ces lésions n’ont pas toujours une évolution progressive. Dans certains cas, elles peuvent régresser.

Du fait de la multiplication cellulaire, et de l’évolution naturelle au sein des couches épithéliales, les cellules basales atteintes donnent naissance à des cellules parabasales, elles

mêmes affectées, puis à des cellules plus superficielles. La répartition des koïlocytes au sein des couches épithéliales est à l'origine de la classification des lésions cervicales précancéreuses: Néoplasie Intra-épithéliale Cervicale (CIN) 1, où les cellules pathologiques occupent le tiers inférieur de l'épithélium; CIN2, où ce sont les 2/3 qui sont ainsi affectées; et CIN3, où tout l'épithélium est atteint. Les CIN2 et 3 sont des précurseurs du cancer invasif. Le type viral, la persistance de l'HPV et la charge virale sont autant de facteurs liés à la progression des infections vers le stade du cancer [50]. On a ainsi la représentation suivante (Figure 13) des différentes étapes menant au développement du cancer du col. Le délai moyen entre une CIN de haut grade et un cancer est estimé à 10 ans.

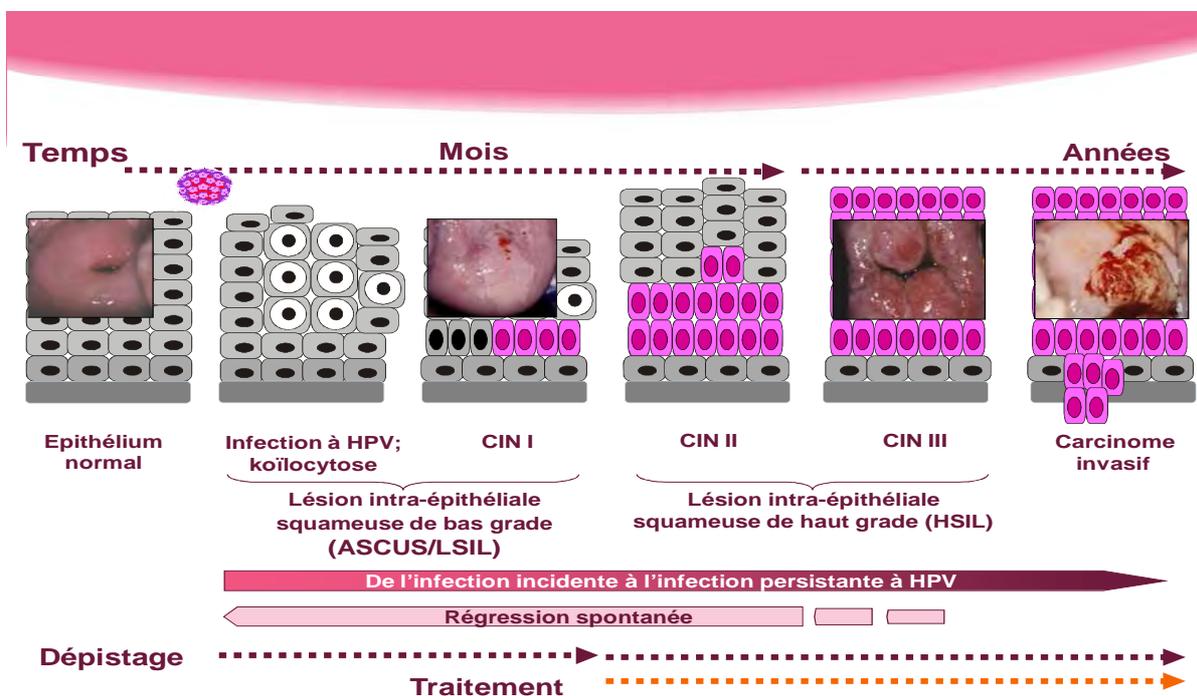


Figure 13 – Schémas représentatifs du continuum de la carcinogénèse cervicale [51].

Différentes classifications histologiques ont été utilisées pour caractériser les lésions précancéreuses. Dans les années 50, quatre groupes lésionnels ont été individualisés : la dysplasie légère, modérée, sévère, et le carcinome in situ, repris dans la classification de l'OMS en 1968. Puis en 1973, Richart a introduit le terme de néoplasie intra-épithéliale cervicale (CIN) [50]. Sa classification comporte trois grades de 1 à 3, selon la sévérité des lésions. La correspondance entre les classifications est facilement établie (Tableau 5). Le terme de CIN de bas grade (CIN1) et de haut grade (CIN2 et 3) est également utilisé par analogie à la terminologie cytologique de Bethesda.

Epithélium Normal	Condylomes	Dysplasie légère	Dysplasie modérée	Dysplasie sévère	Carcinome	OMS 1968
	Condylomes	CIN1	CIN2	CIN3		Richart 1973
	Lésions intra-épithéliale de bas grade		Lésions intra-épithéliale de haut grade			Bethesda 1988

Tableau 5 – Classification des lésions cervicales selon les critères de l’OMS, de Richart et de Bethesda [51].

Les pathologistes définissent les CIN par la présence de perturbations architecturales au niveau de l’épithélium malpighien associant une perte de différenciation tissulaire à des anomalies cytologiques.

Ainsi la classification histologique décrit les CIN en 3 stades de gravité croissante :

- CIN 1 de bas grade, les lésions occupent le tiers basal de l’épithélium
- CIN 2 de grade intermédiaire, les lésions occupent les deux tiers de l’épithélium
- CIN 3 de haut grade, tout l’épithélium est concerné par la lésion.

La classification cytologique distingue quant à elle distingue les deux principaux groupes :

- HSIL (high grade squamous intraepithelial lesion, en français: lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade)
- LSIL (low grade squamous intraepithelial lesion, en français: lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade).

Ces anomalies malpighiennes (SIL) se superposent tout ou en partie avec les néoplasies intra-épithéliales cervicales (CIN) suivant la classification de Bethesda.

On estime en France, entre 20 000 et 30 000 CIN2/3 diagnostiquées chaque année [26-38].

- Les différentes évolutions possibles des Néoplasies intra-épithéliales Cervicales

Plus récemment, un autre modèle de la carcinogénèse du cancer du col utérin a été proposé. Plutôt que de considérer un mode de progression des CIN, il conviendrait aujourd’hui de séparer deux groupes de lésions au potentiel évolutif très différent. D’une part, les lésions de bas grade (CIN1) qui sont bénignes et donc régressives, et d’autres part, les lésions de haut grade (CIN2-3) qui sont à risque d’évoluer vers un cancer invasif.

Pour chaque grade de lésion, y compris pour les carcinomes épidermoïdes in situ assimilés aux CIN3, l'évolution est variable : il existe soit une probabilité de retour vers un épithélium normal, soit une probabilité de persistance ou de progression vers un stade plus avancé [38].

Les différentes études réalisées dans ce domaine, ont montré que, pour les lésions de bas grade, plus de la moitié régressaient spontanément en quelques années, mais qu'il restait environ 10% qui évoluaient vers un grade plus élevé. Ces mêmes études ont également montré que parmi les lésions de haut grade, environ 30 à 40% régressaient, et qu'un peu plus de 10 % évoluaient vers un cancer invasif. En somme, moins de 1 à 2 % des infections évoluent vers un cancer [52].

<i>Lésion</i>	<i>Régression</i>	<i>Persistance</i>	<i>Progression vers une CIN supérieure</i>	<i>Progression vers un cancer invasif</i>
<i>CIN1</i>	57%	32 %	11%	1%
<i>CIN2</i>	43%	35%	22%	5%
<i>CIN3</i>	32%	56%	-	12%

Tableau 6 – Evolution des CIN (Suivi de 2 à 7 ans) selon Ostor, 1993 : probabilités moyennes de régression, de persistance et d'évolution des CIN - Revue de la littérature portant sur 50 études [52].

Ainsi pour Castle [53], les CIN2 représentent un groupe de lésions hétérogènes et non une simple étape évolutive de CIN1 vers une CIN3. Les CIN2 seraient partagées entre des lésions « régressives » dues à une infection transitoire à un HPV et des lésions qui seraient d'authentiques « pré-cancer ». En d'autres termes, la CIN2 serait à l'histologie ce que le frottis ASC-US est à la cytologie. Le diagnostic histologique de CIN2 est donc difficile, sa réalité discutable et son interprétation délicate. Dans sa revue de la littérature, Ostor montrait déjà que les CIN2 pouvaient régresser dans 43%, persister dans 35%, et progresser vers une invasion dans 5% des cas [52]. Castle et son équipe [54] ont donc réalisé une étude incluant 5052 femmes ayant un frottis ASC-US ou LSIL. Les patientes ont été randomisées dans 3 bras : soit colposcopie-biopsie immédiate (bras n°1), soit recherche d'un HPV à haut risque et colposcopie-biopsie si présence d'un HPV à haut risque (bras n°2), soit surveillance par frottis puis colposcopie-biopsie au bout de 18 mois (bras n°3). Dans les 3 groupes, une surveillance par FCU a été réalisée tous les 6 mois. Les résultats montraient des différences significatives ($p < 0,001$) dans la proportion de CIN2 diagnostiquées dans chaque bras : 9,9% pour le bras

n°1, 7,8% pour le bras n°2, 5,8% pour le bras n°3. Ces différences s'expliquaient par les différences de délais de l'évaluation colposcopique dans chaque bras. Plus le délai s'allongeait, plus la proportion de CIN2 diagnostiquées dans les différents bras était plus prononcée, avec des taux plus importants chez les femmes de moins de 30 ans (11,7% de CIN2 dans le bras n°1, 6,4% dans le bras n°3) que chez les femmes de plus de 30 ans (5,5% dans le bras n°1 et 4,2% dans le bras n°3). Cependant, cet effet spécifique de l'âge n'était pas statistiquement significatif ($p=0,3$). Les auteurs estimaient donc qu'approximativement 40% des lésions de CIN2 de la femme jeune allaient régresser spontanément dans les 18 mois. Il était important de noter que dans cette étude, l'allongement du délai de la colposcopie par rapport au frottis initial (ASC-US ou LISIL) n'augmentait pas la proportion de CIN3.

Le cancer invasif se développe environ 15 ans voir 25 ans après l'acquisition de l'infection. Le passage du stade de l'infection à une CIN1 met entre 2 et 5 ans. Puis, entre le stade de CIN1 et CIN3, il s'écoule 4 à 5 ans. Enfin le passage de la CIN3 au carcinome invasif met entre 9 et 15 ans. Les dysplasies de bas grade sont diagnostiquées le plus souvent chez les jeunes femmes de 20 à 29 ans; les dysplasies de haut grade chez les femmes de 30 à 39 ans et les cancers invasifs chez celles de 40 à 49 ans [55].

L'apparition d'un cancer invasif du col de l'utérus après passage par des stades de lésions précancéreuses (CIN), et avec un long délai de progression, laisse donc une fenêtre d'opportunité importante pour la prévention du cancer, grâce à la répétition des examens de dépistage à des intervalles suffisamment espacés.

Mais, l'évolution de la pathologie cervicale varie en fonction du type d'HPV en cause. Elle sera plus sévère s'il s'agit d'HPV dits oncogènes et moins sévère s'il s'agit d'HPV dits non oncogènes. Ce risque oncogène lié aux différents types d'HPV est variable selon les résultats de toutes les études IARC confondues et maximal en cas d'infection au HPV 16 et 18 (figure 14).

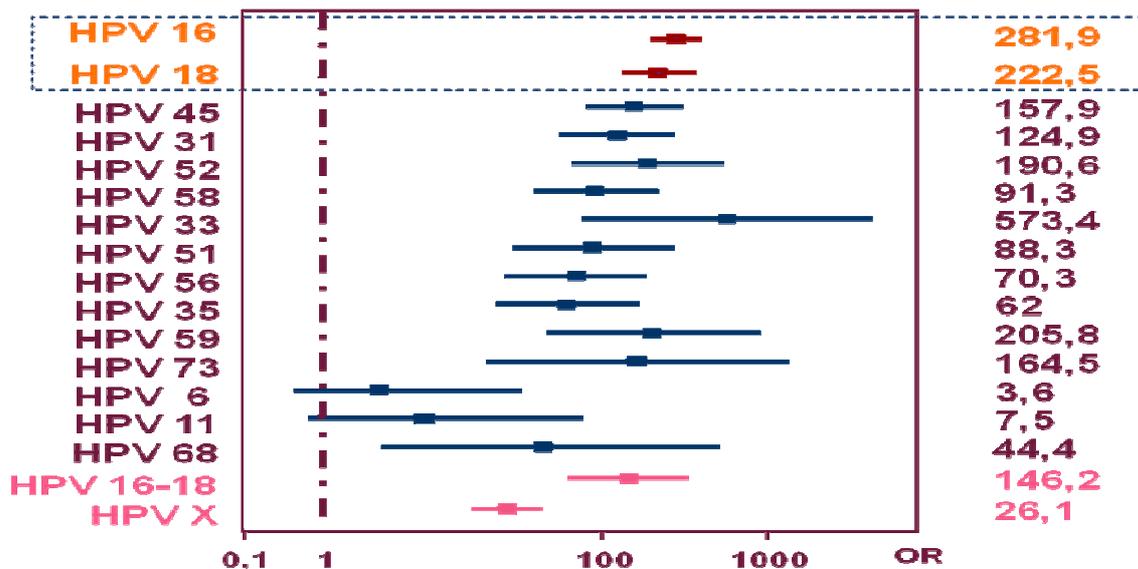


Figure 14 – Risque relatif de cancer du col par type d'HPV toutes études IARC confondues [56].

Ainsi les facteurs d'évolution des néoplasies intra-épithéliales vers un cancer du col utérin après infection par le Human Papilloma Virus sont surtout :

- la persistance de l'infection par un des huit génotypes à haut risque oncogène
- la forte charge virale de papillomavirus dans le col de l'utérus,
- l'immunodépression (constitutionnelle, malades transplantés, infection par le VIH, traitement immunosuppresseur...).

Cependant, d'autres facteurs sont aussi évoqués dans différentes études avec plus ou moins de discordance : cervicite à chlamydia trachomatis, à herpes simplex virus 2, à cytomégalovirus, tabagisme, utilisation au long cours (plus de 5 ans) de contraceptifs oraux, certains haplotypes du système HLA, hormones endogènes (nombre de grossesses, statut ménopausique), concentration plasmatique élevée en homocystéine, exposition in utero au diethylstilbène.

3. ANATOMOPATHOLOGIE DU CANCER DU COL UTERIN

Il existe une classification anatomique des cancers du col utérin distinguant les différents types anatomopathologiques.

- Carcinomes épidermoïdes

Ils représentent 80 à 95% des tumeurs malignes du col utérin. Ils se développent à partir de la muqueuse malpighienne exocervicale et se présentent sous deux formes :

- ✓ Les carcinomes épidermoïdes invasifs, dont il existe plusieurs types : kératinisant, non kératinisant, verruqueux, condylomateux, papillaire transitionnel, lymphoépithélial. Ce sont les plus répandus.
- ✓ Les carcinomes épidermoïdes micro-invasifs qui correspondent aux stades infracliniques Ia1 et Ia2 (classification FIGO).

- Adénocarcinomes

Ils sont moins fréquents mais apparaissent en augmentation relative dans certaines séries. Ils se développent à partir de la muqueuse glandulaire endocervicale, ils peuvent également être exophytiques ou infiltrants, et dans 15 à 20% des cas, la lésion n'est pas visible macroscopiquement.

- Tumeurs rares

Les mélanomes du col et les sarcomes du col sont des lésions rares dont le pronostic est globalement mauvais.

Devant un cancer du col, l'évaluation de son degré d'extension permet d'établir son stade FIGO. L'évaluation de ce stade permet une évaluation pronostique importante des cancers du col, c'est le facteur pronostique indépendant le plus important (Annexe 2). Cette stadification est fondée sur l'examen clinique et le bilan paraclinique, appréciant l'envahissement local. Elle ne peut tenir compte de l'envahissement ganglionnaire qui reste le deuxième facteur pronostique.

C. DEPISTAGE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS EN FRANCE

Le but du dépistage, dans le cas du cancer du col de l'utérus, est bien d'éviter l'invasion avec son pronostic réservé et ses séquelles importantes, et non de mettre en évidence des anomalies cytologiques mineures ou une infection passagère dont l'histoire naturelle est très majoritairement la guérison spontanée. C'est tout le problème de la sensibilité (capacité d'un

test à donner un résultat positif lorsque la maladie est présente) et de la spécificité (capacité à donner un résultat négatif lorsque la maladie n'est pas présente) d'un test de dépistage.

Le cancer du col de l'utérus est un candidat idéal au dépistage par son évolution lente et l'existence de nombreuses lésions précancéreuses curables. Le test de dépistage de référence des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus repose sur le frottis cervico-utérin. Il n'y a pas à l'heure actuelle en France de programme national de dépistage organisé du cancer du col de l'utérus. En revanche, le dépistage individuel est bien développé [6].

1. DEPISTAGE INDIVIDUEL

Le dépistage individuel (appelé également dépistage spontané) du cancer du col de l'utérus est une pratique bien développée en France. La répétition des FCU permet de compenser le manque de sensibilité d'un seul FCU (de l'ordre de 60 %) et de rendre ce dépistage efficace compte tenu de l'histoire naturelle de cette pathologie marquée par une évolution généralement lente. En France, il est recommandé de réaliser un FCU à partir de 25 ans et jusqu'à 65 ans, tous les 3 ans après 2 FCU normaux réalisés à 1 an d'intervalle chez les femmes asymptomatiques ayant ou ayant eu une activité sexuelle.

Le nombre de frottis réalisés en médecine libérale provient des données de la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CnamTS). En 2003, 2004 et 2005, respectivement 4 546 924, 4 534 271 et 4 683 902 frottis ont été remboursés. Ces nombres de frottis, rapportés à la population féminine des assurées sociales de la CnamTS âgées de 25 à 65 ans, permettent de calculer des taux d'activité moyens annuels. Ces taux d'activité sont de 30,4 frottis pour 100 femmes en 2003, 29,7 en 2004 et 30,1 en 2005. Ces volumes correspondraient à une couverture, c'est-à-dire la proportion de femmes ayant réalisé un FCU sur trois ans, de 90,2% si les femmes ne faisaient qu'un seul frottis de dépistage tous les trois ans. En pratique, certaines femmes en font plus souvent, d'autres jamais ou trop rarement [6]. L'estimation du taux de couverture par FCU est fondée sur l'Échantillon permanent inter-régime des bénéficiaires (Epib qui ne concerne pour le moment que la CnamTS). Le taux de couverture global est estimé à 58,7 % sur la période 2003-2005 et à 56,6% sur la période 2006-2008 pour les femmes de 25 à 65 ans. Entre 25 et 54 ans, la couverture de dépistage est supérieure à 60 % avec, chez celles de 35 à 44 ans, une couverture de 66,5 %. En revanche, la couverture chute en dessous de 50 % après 55 ans (Figure 15).

La couverture déclarée par les femmes lors d'enquêtes en population générale permet d'avoir une estimation de la "fourchette" haute de la couverture. Parmi les femmes de 25 à 65 ans

interrogées dans le "Baromètre cancer" 2005, 81,0 % ont déclaré avoir eu un FCU au cours des trois dernières années. Le recours déclaré au FCU au cours des trois dernières années varie avec l'âge : il dépasse 80,0 % entre 30 et 54 ans et est inférieur à 74 % dans les autres tranches d'âge (Figure 16) [6].

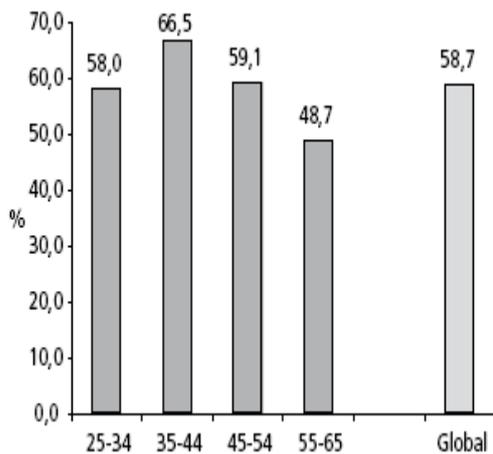


Figure 15 – Taux de couverture par FCU chez les femmes de 25 à 65 ans – Période 2003-2005 (Epib) [6].

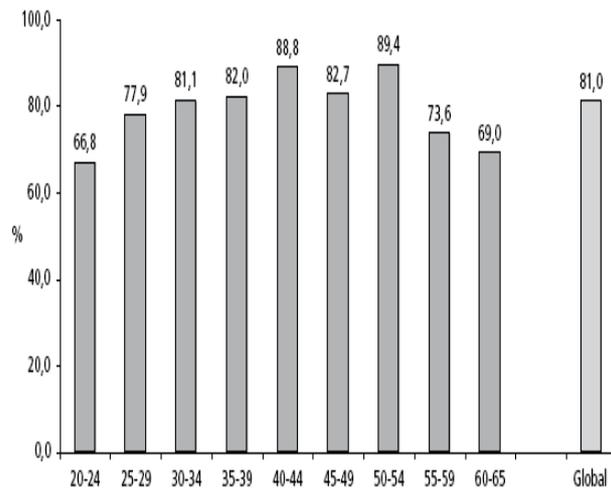


Figure 16 – Taux de couverture par FCU déclaré chez les femmes de 25 à 65 ans – Baromètre cancer 2005 [6].

Une faible proportion de femmes respecte strictement l'intervalle recommandé de 3 ans entre 2 FCU (après 2 FCU initiaux négatifs). Certaines femmes bénéficient d'un suivi trop rapproché tandis que d'autres échappent totalement au dépistage. Sur une période de 6 ans, à partir des données de l'EGB (Echantillon généraliste des bénéficiaires), la proportion de femmes bénéficiant d'un dépistage à un rythme sous-optimal (absence de FCU en 6 ans ou rythme entre 2 FCU supérieur à 3 ans et demi) a été estimée à 51,6 % de la population des 25-65 ans, celle des femmes en situation de sur-dépistage (rythme entre 2 FCU inférieur à 2 ans et demi) à 40,6 %. Enfin, la proportion de femmes pour lesquelles l'intervalle recommandé de 3 ans entre 2 FCU est strictement respecté a été estimée à 7,9 % de la population des 25-65 ans [57].

Le "dépistage individuel et spontané a atteint ses limites", estimait la HAS. Le taux de couverture (57%) "Stagne alors que la loi de santé publique fixe un objectif de 80% de femmes dépistées pour ce cancer". En outre, "50% des femmes ne sont pas ou trop peu souvent dépistées, quand 40% le sont trop souvent".

2. DEPISTAGE « ORGANISE »

En France, depuis les années 90, cinq départements ont mis en place un dépistage dit "organisé" du cancer du col de l'utérus. Il s'agit d'initiatives locales. L'organisation comprend une structure de gestion chargée de la coordination au niveau local. Chaque structure de gestion a adopté une organisation différente (mode d'invitation, recueil des frottis, tranches d'âges...) étant donné qu'il n'y avait pas de cahier des charges national publié [58].

En 2009, seules trois structures de gestion organisaient le dépistage du cancer du col de l'utérus: l'Isère, l'Alsace (Bas-Rhin et Haut-Rhin) et la Martinique ; le Doubs ayant arrêté son programme depuis fin 2004. Ils ont ensuite été rejoints par 9 autres départements (Allier, Cantal, Haute-Loire, Puy-de-Dôme, Cher, Indre-et-Loire, Maine-et-Loire, La Réunion, Val-de-Marne) en cours d'étude.

Une première évaluation du dépistage organisé des quatre départements toujours en activité en 2007 a été réalisée par l'institut de veille sanitaire (InVS). Cette première évaluation centralisée du dépistage organisé du cancer du col de l'utérus a permis à la fois d'analyser les résultats des programmes développés dans les différents départements et de les comparer pour les femmes de la tranche d'âge 50 à 65 ans, seule tranche d'âge commune aux quatre départements. Malgré une participation au dépistage organisé assez faible lorsqu'elle était calculable, le pourcentage de femmes ayant eu au moins un frottis sur une période de trois ans (couverture) était plus élevé que le pourcentage national, en particulier dans les départements alsaciens et en Isère. Cette augmentation globale de la couverture de dépistage en Alsace et en Isère se distinguait de plus par son maintien à un niveau élevé après 50 ans alors que la moyenne nationale chutait après cet âge [57].

Rappelons que la mise au point réalisée en 2004 sur les données du dépistage du cancer du col en France, indiquait que :

- 55 % des femmes étaient spontanément dépistées mais sans respect du rythme recommandé,
- 35 % des femmes n'avaient jamais eu de frottis ou en ont eu à intervalles trop grands,
- pour plus de 50 % des cas de carcinome invasif ou *in situ* diagnostiqués, il n'y avait pas eu de FCU dans les 3 années précédant le diagnostic.

Selon les résultats de l'HAS en 2010, si l'on compare ces données aux résultats du dépistage organisé dans les départements pilotes, elles ont obtenues de meilleurs résultats à moyen terme notamment en Alsace :

- un taux de couverture à 5 ans de 80 %, plus élevé que la moyenne française,
- une baisse du nombre de frottis inutiles grâce à une régularisation du rythme,
- une qualité augmentée par un suivi des femmes ayant un frottis positif et une formation permanente des professionnels des départements impliqués.

Cependant les données disponibles ne permettaient pas de conclure quant à l'efficacité des expériences de dépistage organisées, en termes de cancers évités et de diminution de la mortalité. En Alsace, les données du registre du cancer du Bas-Rhin révélaient cependant une progression significative du ratio entre CIN3 et cancers invasifs depuis le début du programme.

En 2010, l'HAS après avoir fait un état des lieux concernant le dépistage du cancer du col et notamment celui du dépistage organisé, établit les recommandations suivantes [57] :

« 1. Le dépistage doit s'appuyer sur les gynécologues médicaux, les gynécologues-obstétriciens ainsi que sur les médecins généralistes et les sages-femmes. Leur implication est nécessaire en termes d'information et d'incitation au dépistage.

2. Le dépistage reste fondé sur la réalisation d'un FCU (conventionnel ou en milieu liquide) à un rythme triennal (après 2 FCU normaux réalisés à 1 an d'intervalle) entre 25 et 65 ans. La mise en œuvre du test pour la détection des HPV en dépistage primaire en population générale est actuellement prématurée. Elle n'est susceptible d'intervenir que lorsque les conditions organisationnelles et d'assurance qualité du dépistage nécessaires seront définies et remplies.

3. Pour chacune de ces patientes, le médecin traitant coordonne le dépistage. Il effectue la synthèse des informations transmises par les professionnels de santé concernés (dans le respect des obligations déontologiques et légales), incite à la participation au dépistage, prescrit un test de dépistage ou réalise lui-même le prélèvement, et s'assure de la bonne prise en charge en cas de test positif.

4. Les prélèvements sont réalisés par des professionnels spécifiquement formés (gynécologues, médecins généralistes et sages-femmes) et dans des conditions garantissant leur qualité. Compte tenu de la situation française au regard de la démographie médicale, une augmentation de l'offre, qui s'appuie sur les acteurs de proximité géographique et «relationnelle» du système de soins est nécessaire. La diversification des professionnels réalisant les prélèvements pourrait concerner les infirmiers (es) dans le cadre de coopérations entre professionnels. Des incitations économiques à la réalisation du FCU (conformément aux recommandations de la HAS) peuvent également être envisagées ».

3. PREVENTION DU CANCER DU COL DE L'UTERUS : LA VACCINATION

Les caractéristiques épidémiologiques et physiopathologiques du cancer du col de l'utérus ont permis le développement des recherches et la fabrication d'un vaccin. La figure 17 illustre la progression de sa mise en place.

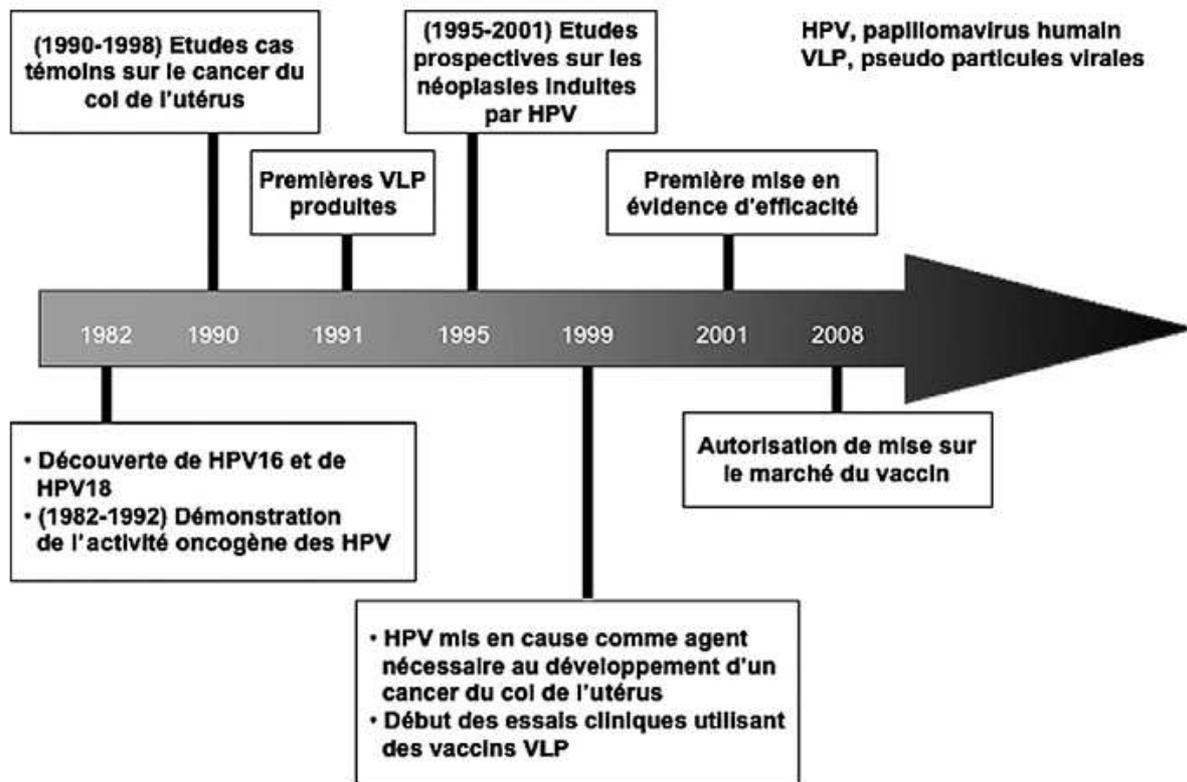


Figure 17 – De la découverte des HPV à la mise sur le marché du vaccin anti-papillomavirus selon Hantz [44].

Le vaccin le plus utilisé actuellement en France est le vaccin Gardasil. C'est un vaccin prophylactique dont le but est de stimuler les acteurs de l'immunité et d'empêcher le virus d'atteindre sa cible et/ou le détruire très vite avant qu'il n'ait le temps d'infecter les kératinocytes : les types d'HPV concernés sont les HPV 6 et 11 à bas risque et les HPV 16 et 18 à haut risque [59].

Le HPV 16 étant responsable de plus de la moitié des cancers du col de l'utérus, les premiers essais ont utilisé uniquement une pseudo-particule virale (VLP) de l'HPV 16 chez des femmes HPV négatives. Les titres d'anticorps obtenus étaient très élevés (50 à 100 fois ceux mesurés lors de l'infection naturelle) [60]. Après obtention de résultats prometteurs lors d'un essai multicentrique, en double insu, utilisant une VLP de HPV 16 contre un placebo à base

d'alun, sur 2 409 jeunes femmes de 16 à 23 ans, avec frottis normaux, sérologie anti-HPV 16 négative et ayant eu moins de cinq partenaires sexuels, un essai a inclus 551 femmes de 16 à 23 ans et a testé divers vaccins quadrivalents. Enfin deux essais de phase III (études 013 = FUTURE I et 015 = FUTURE II) portant sur plus de 17 000 (5 455 dans FUTURE I et 12 167 dans FUTURE II) jeunes femmes de 16 à 26 ans (79 seulement étaient âgées de 24 à 26 ans) ont ensuite été menés de 2002 à 2007, utilisant les VLP associés des HPV 6, 11, 16 et 18. Ces études étaient randomisées en double aveugle versus placebo. Les femmes ne devaient pas avoir d'antécédents de dysplasies observées sur FCU ou sur colposcopie ; elles ont bénéficié à J1 (premier jour), M2 (deuxième mois) et M6 (sixième mois) d'une injection en intramusculaire du vaccin ou du placebo. Les études devaient durer 4 ans mais la dernière analyse a finalement été effectuée à 44 mois. Les jeunes femmes ayant eu plus de quatre partenaires différents étaient exclues de l'étude [61-62-63].

Les objectifs cliniques de ces études, étaient de démontrer que l'administration du vaccin pouvait réduire l'incidence des

- CIN 2/3 ou adénocarcinomes in situ (AIS) liés aux HPV 16/18
- CIN 1, 2, 3 liés aux HPV 6, 11, 16 et 18
- Lésions génitales externes, condylomes acuminés, néoplasies vulvaires et vaginales liées aux HPV 6, 11, 16, 18.

Le critère d'évaluation principal d'efficacité reposait sur l'apparition de CIN 2/3 ou d'adénocarcinomes in situ liés aux HPV 16/18 employés comme marqueurs de substitution du cancer du col selon les recommandations de l'OMS et de la FDA. Le cancer du col comme critère principal ne pouvait pas être encore étudié car la durée d'évolution entre l'infection à HPV et ces lésions étant longue, des essais sur plusieurs années étaient nécessaires.

La population étudiée correspondait à une population idéale : l'ensemble des jeunes filles non infectées à l'inclusion par un ou plusieurs types de papillomavirus ciblés par le vaccin et pendant les sept mois suivant la première injection (sérologie anti-HPV et PCR négatives avec un frottis normal ou non à l'inclusion). Les jeunes filles devaient avoir reçu les trois doses de vaccin soit environ les $\frac{3}{4}$ des femmes incluses.

L'analyse combinée des résultats des différentes études a montré une efficacité vaccinale de 98,2% en prévention des CIN 2/3 ou des AIS associés aux HPV 16 et 18 [63] :

- 2 cas de CIN 3 sur 8 493 femmes incluses dans le groupe Gardasil
- 112 cas de CIN 2/3 ou AIS sur 8 464 femmes dans le groupe placebo.

L'efficacité dans la population générale était moindre. L'analyse a été conduite dans l'intention de traiter. La population étudiée était le reflet de la population générale : ensemble des jeunes filles ayant reçu au moins une dose de vaccin quelque soit leur statut HPV initial. 21% des participantes présentaient une infection à HPV et 12% avaient une anomalie cytologique sur le frottis à l'inclusion [64].

L'analyse combinée des quatre études montrait une efficacité vaccinale de 51,8% en terme de prévention des CIN 2/3 ou AIS dus aux HPV 16 et 18 [63]:

- 146 cas de CIN 2/3 ou AIS sur 9 836 femmes incluses dans le groupe Gardasil
- 303 cas de CIN 2/3 ou AIS sur 9 903 femmes dans le groupe placebo.

Dans les résultats de FUTURE II, publiés en 2007, portant sur plus de 12 000 femmes, les dysplasies cervicales de haut grade liées à HPV 16 ou 18 diminuaient de 44% (83 cas de CIN 2/3 ou AIS dans le groupe Gardasil versus 148 dans le groupe placebo [62]. Cette efficacité était limitée sur les dysplasies de haut grade quelque soit le HPV en cause.

Dans les résultats à 3 ans de FUTURE I, publiés en 2007, l'efficacité pour la prévention des CIN 2 quelque soit le type d'HPV n'était que de 13% [61-65].

Depuis la parution de ces différents essais, de multiples articles sont parus sur le sujet, retrouvant :

- une diminution prouvée des dysplasies de haut grade du col de l'utérus liées à HPV 16 et 18
- une grande efficacité sur la population cible.

On peut donc dire que l'analyse des études évaluant l'effet vaccinal, montre une efficacité vaccinale sur les CIN 2/3 ou AIS dus aux HPV 16 et 18 chez les jeunes femmes indemnes de toute infection HPV. En rattrapage, l'efficacité vaccinale sur les CIN 2/3 ou AIS, quelque soit le type d'HPV, n'est que de 18.4%. L'intérêt de la vaccination de rattrapage n'est donc clairement pas démontré. Enfin, l'effet en terme de prévention des cancers du col et de mortalité n'est pas démontré : un suivi prolongé et attentif des populations vaccinées est nécessaire [65].

D. LES MOYENS DIAGNOSTIQUES DES LÉSIONS PRECANCEREUSES

En France, l'âge moyen des patientes chez qui l'on diagnostique une CIN ne cesse de baisser : 35,5 ans en 1989, contre 31,5 ans en 1994 et 29,7 ans en 2004 [66]. Par ailleurs, l'âge moyen de la première grossesse continue à augmenter pour atteindre 30 ans en 2010 [67]. Le diagnostic d'une lésion intra-épithéliale de haut grade (CIN2 et CIN3) impose classiquement la réalisation d'une conisation. Cet acte chirurgical a des effets indésirables connus. Les sténoses cervicales compliquent le suivi post-opératoire colposcopique en rendant la zone de jonction inaccessible. Les complications obstétricales qui sont aujourd'hui prouvées associent prématurité, petit poids de naissance et augmentation de la mortalité périnatale. A l'inverse, il faut prendre en compte le risque de ne pas traiter ces lésions est de voir apparaître un cancer invasif [68-69].

1. LE FROTTIS CERVICO-UTERIN

En France, on estime le nombre de FCU positifs à 55000 par an, qui aboutissent à 25000 traitements soit par destruction ou exérèse. Le coût total est évalué entre 190 à 320 millions d'euros par an [57].

a. Le frottis conventionnel

Le test de dépistage de référence des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus repose sur un examen cytologique : le FCU. C'est un examen simple et peu coûteux.

Il consiste en un prélèvement de l'exocol puis de l'endocol en prenant bien soin de prélever au niveau de la zone de jonction entre l'exocol et l'endocol (zone de développement de la dysplasie). Le prélèvement est ensuite étalé directement sur une lame, fixé par spray puis envoyé en anatomopathologie avec lecture directe de la lame par le cytologiste. L'examen cytologique consiste à observer, au microscope, les cellules de la surface de l'épithélium. Il permet de détecter les signes en faveur d'une virose (koïlocytose) ou d'une dysplasie. Le signe évident d'une infection à HPV, est la détection d'une cellule caractéristique appelée koïlocyte. Cette cellule est une cellule superficielle ou intermédiaire de l'épithélium excervical, caractérisée par une vacuolisation périnucléaire, avec en périphérie un

cytoplasme dense et coloré de manière irrégulière, et un noyau central volumineux montrant une membrane nucléaire soulignée, et une chromatine dense et irrégulière (Figure 17) [23].



Figure 18 – A : cellules malpighiennes normales ; B : cellules glandulaires normales ; C : cellules malpighiennes comportant une zone périnucléaire optiquement vide bordée par une densification cytoplasmique et une augmentation modérée de la taille du noyau : koilocytes typiques [23].

Pour tenir compte du degré de précision de l'interprétation cytologique moins élevé que celui de l'histologie, est apparu en 1991 un mode de classification propre aux lésions cytologiques, actualisé en 2001 : le système de Bethesda (Annexe 3) différenciant les différentes anomalies cytologiques :

- Anomalies des cellules malpighiennes
 - Frottis ASC-US : (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance : cellules malpighiennes atypiques de signification indéterminée) qui correspond dans 5 à 10% des cas à une CIN2 ou CIN3,
 - Frottis ASC-H (Atypical squamous cells cannot exclude HSIL : cellules malpighiennes atypiques ne permettant pas d'exclure une HSIL) qui correspond dans 40% des cas à une CIN2 ou CIN3,
 - Frottis LSIL (Low grade Squamous Intraepithelial Lesion : lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade),
 - Frottis HSIL (High grade Squamous Intraepithelial Lesion) : lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade),
 - Carcinome malpighien.

- Anomalies des cellules glandulaires :
 - Frottis avec atypies cellulaires glandulaires,
 - Frottis avec atypies cellulaires glandulaires en faveur d'un cancer,

- Adénocarcinome in situ,
- Adénocarcinome.

La prise en charge des anomalies dépistées par le frottis a été codifiée en France grâce à des recommandations de la HAS. Lorsque des anomalies sont détectées sur le FCU, il est souvent nécessaire de réaliser une colposcopie afin de localiser la lésion cervicale source, guider la biopsie et permettre l'examen histologique. L'examen histologique des lésions va ainsi assurer le diagnostic.

En cas d'anomalies de type ASC-US ou LSIL, le contrôle de la cytologie à 6 mois est une alternative à la colposcopie [70].

b. Frottis en milieu liquide

L'efficacité du test de Papanicolaou est entravée par la grande variabilité inter et intra-observateurs et par des taux élevés de faux négatifs et faux positifs qui se situent respectivement au alentours de 20-30% et 5-70%,

Les améliorations techniques actuelles du test de Papanicolaou telles que le frottis en phase liquide (LBC) n'ont pas démontré d'amélioration franche de la sensibilité ou de la spécificité pour la détection des néoplasies intra-épithéliales cervicales de haut grade (CIN) par rapport à la technique de cytologie classique.

A la différence du frottis conventionnel, le matériel prélevé est mis en suspension dans un flacon contenant un liquide de conservation qui sera acheminé au laboratoire qui préparera les lames pour l'analyse cytologique. Les avantages de cette technique est de tenter d'améliorer la sensibilité du frottis en améliorant les processus de prélèvement et de préparation des cellules. De plus, elle rend possible la détection de l'ADN à HPV à partir du même prélèvement. Mais les inconvénients de ces techniques sont la nécessité d'instruments de prélèvements, fixatifs et dispositifs de préparation exclusifs, avec ainsi un coût plus important que le frottis traditionnel [70].

Une évaluation des données de 20 études (68 114 participantes) comparant les frottis conventionnels au frottis en phase liquide retrouvait les résultats suivants [71]:

- Sensibilité de la cytologie en phase liquide à 81% et du frottis classique à 74%
- Spécificité de la cytologie en phase liquide à 83% et du frottis classique à 87%

- Prélèvements ininterprétables en moyenne moins nombreux qu'avec le frottis classique mais variables en fonction des études,
- Hausse de 48% du taux de colposcopies.

Une étude récente [72] comparait l'utilisation de la cytologie en milieu liquide (LBC) à la cytologie classique (CC) dans l'évaluation de la néoplasie intra-épithéliale cervicale (CIN) pré-colposcopique par rapport au résultat histologique de la biopsie cervicale dirigée sous colposcopie en termes de sensibilité et de spécificité pour les lésions de haut grade seulement, puis pour toutes anomalies confondues. Il s'agissait d'une étude rétrospective de cohorte dans laquelle le degré de corrélation des différents examens a été recherchée avec comme critères secondaire les taux de satisfaction et le coût. Un total de 1961 femmes avaient eu une colposcopie dont 528 avaient bénéficié de biopsies cervicales. Les examens cytologiques par méthode classique et sur phase liquide avaient la même sensibilité et spécificité à la fois pour les lésions de haut grade et pour toute anomalie confondue. En comparaison avec le résultat histologique sur biopsie cervicale, la sensibilité du frottis classique et en phase liquide pour la détection des lésions de haut grade était de 89,1% et 88,6% respectivement et pour toutes les anomalies, la sensibilité était de 86,6% et 87,0%. La spécificité pour les lésions de haut grade était de 83,1% et 84,7%, et pour toutes les anomalies, la spécificité était de 53,8% et 56,4%. Le taux d'examens non contributifs était significativement plus faible pour les cytologies en phase liquide avec un taux de 1,84% par rapport à la cytologie classique avec un taux de 4,38% ($P < 0,001$). Cependant, l'utilisation de frottis en phase liquide a été associée à un coût plus important malgré le nombre de frottis insatisfaisants évités. Ainsi le frottis en phase liquide n'avait montré aucune différence statistiquement significative de la sensibilité et la spécificité par rapport au frottis classique pour la détection des CINs.

En 2002, l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé (ANAES), devenue depuis HAS, estimait que les données disponibles n'étaient pas suffisantes pour privilégier le frottis en milieu liquide en terme de sensibilité et surtout de spécificité [70]. En décembre 2007, l'Académie Nationale de Médecine préconisait par contre plutôt cette technique de part les différents examens pouvant être réalisées sur le même prélèvement [73].

Comme nous l'avons dit, la cytologie souffre d'une grande variabilité inter-observateurs, surtout pour ce qui est des anomalies cytologiques de bas grade. Du fait du fort taux de régression spontanée des lésions de bas grade, le suivi approprié des femmes avec un

diagnostic cytologique de LSIL a engendré de vives discussions. En limitant les examens coloscopiques à des cas de lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade (HSIL) ou à des lésions de bas grade persistantes, permettrait de mieux cibler les cas les plus à risque de progression, et ainsi mieux répartir les soins de santé et ressources de santé disponible. Toutefois, malgré le consensus sur l'énorme utilité du dépistage cytologique du col utérin dans la prévention du cancer invasif du col, on en reconnaît bien les limites en termes de sensibilité, spécificité, et de valeur prédictive. Certains auteurs préconisent donc dans la pratique courante des renvois limités en colposcopie, mais leurs détractaires mettent en avant le risque de retarder le diagnostic et finalement traiter les lésions à un stade plus sévère pour certaines femmes.

Zuna et son équipe [74] ont mené une étude rétrospective à partir de 197 biopsies cervicales, évaluant la fiabilité de la cytologie pour le diagnostic des lésions cervicales de haut grade (HSIL), afin de limiter la colposcopie aux femmes présentant des interprétations cytologiques de lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade (HSIL). Parmi ces biopsies, ils disposaient de 138 recueils cytologiques faits dans leur laboratoire. Pour chaque frottis, une nouvelle analyse cytologique était réalisée, retrouvant sur les 119 recueils, 80 cas de HSIL (62,7%) et 28 cas de frottis LSIL ou moins étaient considérés comme discordants et reclassés comme étant des frottis HSIL. Les principaux facteurs de confusion dans la catégorisation d'origine, incluaient le manque de cohérence entre les pathologistes pour l'interprétation des anomalies métaplasiques, et le manque de qualité des échantillons avec de nombreux artefacts de séchage. Ainsi, onze cas (10,2%) ne présentaient pas de cellules identifiables et étaient classées dans la catégorie HSIL pour cause d'erreur d'échantillonnage et / ou de séchage avec d'importants artefacts, et étaient donc surclassées. Cette étude démontrait bien de substantielles variabilités d'interprétations des examens cytologiques entre les différents observateurs aboutissant des explorations invasives injustifiées.

On peut ainsi citer certains facteurs limitant l'interprétation cytologique des frottis :

- Les facteurs cliniques avec mauvaise préservation cellulaire, contamination cytologique liée à des processus inflammatoires ou à des agents infectieux, contamination par du sang, échantillon non représentatif des lésions, petite taille des lésions, sous-représentation des cellules endocervicales.
- Les facteurs de laboratoire avec les variations d'interprétation inter-observateurs entre pathologistes, les difficultés d'interprétation des atypies cellulaires des métaplasies avec

différenciation des colorations cellulaires pâles de la métaplasie des cellules HSIL, la présence associée de cellules LSIL, un petit nombre d'anomalies cellulaires, l'atrophie du post-partum.

2. TEST HPV

Considérant que le papillomavirus est un agent nécessaire au développement des lésions cancéreuses et précancéreuses du col utérin et qu'il n'y a pratiquement pas de lésion significative ou à risque sans HPV, on a donc pu proposer de rechercher l'ADN de ces virus par un test biologique [75]. C'est un autre moyen de dépistage que certains, tels que l'American Cancer Society (ACS) et des experts européens (Eurogin) préconisent, en association avec le frottis chez les femmes de plus de 30 ans.

- Réalisation

La recherche d'HPV est réalisée, sur un prélèvement réalisé en plus du FCU conventionnel, ou de préférence à partir du liquide résiduel d'un frottis en milieu liquide. Les techniques de biologie sont les plus utilisées. Elles reposent essentiellement sur des techniques d'hybridation ou d'amplification à l'aide de sondes et/ou amorces spécifiques qui permettent de confirmer la présence de l'ADN viral dans le matériel prélevé. En pratique courante, cette détection moléculaire se fait selon trois méthodes [76] :

- L'hybridation en milieu liquide (Test Hybrid Capture II®), qui est commercialisé, simple d'utilisation et qui détecte un ensemble de virus à haut risque.

- L'hybridation in situ (Inform-HPV®)

- La PCR = Polymerase Chain Reaction (Amplicor HPV Test®) permet le typage viral.

Actuellement en France, ce sont les tests Test Hybrid Capture II® de Digene™ et Amplicor HPV Test® de Roche™ qui sont utilisés. S'appuyant sur une large étude randomisée, ces techniques sont actuellement recommandées et remboursées par la Sécurité Sociale depuis 2004 pour les femmes ayant un frottis équivoque (ASC-US) [75].

L'hybridation en milieu liquide permet la détection de 13 types de HPV-HR retrouvés dans la quasi-totalité des cancers et de 5 types de HPV-BR. Le principe est le suivant :

- L'ADN de l'HPV est dénaturé et hybridé avec une sonde ARN spécifique de 5 HPV-BR et une sonde spécifique de 13 HPV-HR.

- L'hybride ADN-ARN est capturé par un anticorps anti-hybride fixé au fond d'un micro-puit.
- La présence de l'hybride est révélée par un anticorps anti-hybride secondaire, couplé à une molécule de phosphatase alcaline. En présence d'ADN d'HPV, le substrat de la phosphatase alcaline est clivé en molécule luminescente qui pourra alors être détectée (Figure 19).

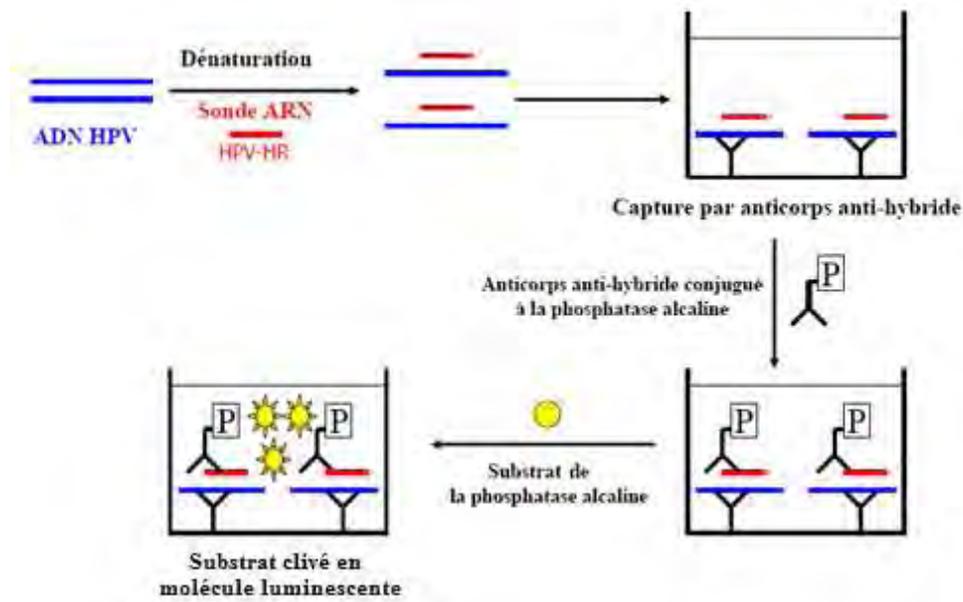


Figure 19 – Les différentes étapes du Test L'hybridation en milieu liquide pour la détection de l'ADN à HPV [75].

L'hybridation *in situ* se pratique sur des cellules isolées ou des coupes tissulaires déposées sur lame. L'emploi de sondes d'hybridation permet de détecter directement le virus sur des coupes histologiques ou des frottis cellulaires. Les doubles hélices d'ADN sont dénaturées par chauffage. On dépose sur la préparation un excès d'ADN viral monocaténaire marqué, avant de réappairier les brins d'ADN complémentaires, de rincer pour éliminer les dépôts non spécifiques et de révéler la présence des brins d'ADN marqués par une réaction colorimétrique. L'image observée permet d'évaluer si le génome viral est sous forme épisomale ou sous forme intégrée.

La PCR permet d'amplifier et d'identifier des séquences d'ADN présentes dans un milieu. C'est à l'heure actuelle, la technique de référence, même si elle est considérée comme plus difficile à mettre en œuvre que les techniques d'hybridation. Les acides nucléiques du prélèvement obtenu par frottis ou biopsie sont extraits, puis la cible ADN correspondant à une séquence connue, est amplifiée exponentiellement selon 3 étapes :

- Dénaturation des doubles hélices d'ADN par chauffage.
- Hybridation des amorces spécifiques encadrant la région à amplifier : la grande diversité des génotypes d'HPV a conduit au développement de systèmes d'amorces à large spectre, permettant l'amplification de nombreux génotypes d'HPV (13 HPV-HR pour le test Amplicor HPV®). Ces amorces doivent cibler une région très conservée et qui n'est pas susceptible d'être délaîtée ou modifiée en cas d'intégration du génome viral au génome de la cellule hôte. La région L1 étant la région la plus conservée du génome viral et étant suffisamment éloignée de la région E2 (point de cassure le plus fréquent en cas d'intégration), le système d'amorce à large spectre d'Amplicor HPV Test® a donc été dessiné dans cette région. Ces régions conservées encadrent des régions spécifiques de type qui permettront par la suite la détection du type en cause. Par ailleurs, les amorces utilisées sont marquées à la biotine, et conduiront donc à des produits biotinylés, ce qui facilitera leur détection ultérieure.
- Extension et amplification grâce à une ADN polymérase ADN dépendant. La région cible peut être amplifiée plusieurs milliards de fois. Le produit d'amplification est nommé amplicon.
- La révélation des amplicons est obtenue après une étape de dénaturation. Un mélange de sondes spécifiques reconnaissant les 13 HPV ciblés, immobilisées dans les puits d'une microplaque, viennent s'hybrider avec les produits d'amplification biotinylés grâce à la complémentarité des séquences nucléotidiques. Une réaction enzymatique faisant intervenir l'avidine-HRP et son substrat permet la révélation des amplicons biotinylés. L'intensité de la réaction colorimétrique est évaluée par lecture de la densité optique à 450 nm.

- Interprétation du test HPV

Le Test HPV permet simplement d'affirmer ou non la présence d'ADN viral dans les cellules qui ont été prélevées sur le col utérin. L'absence de papillomavirus sur un frottis est la signature d'un col normal. A l'inverse, la présence de papillomavirus à risque est un indicateur de vigilance. Il ne signifie pas pour autant la présence d'une lésion sous-jacente, mais alerte le praticien et la patiente pour un suivi ou des examens appropriés.

- Evaluation

L'utilisation du Test HPV en dépistage primaire associé au Frottis permettrait :

- une amélioration de la sensibilité du dépistage (de 60-85% à plus de 96 %).
- une amélioration de la VPN en cas de frottis normal et test d'HPV négatif (de 99,2 % à 99,9%) permettant ainsi un espacement des frottis.

Ces données étaient confirmées par les résultats d'une étude réalisée en Suède portant sur 12527 femmes âgées de 32 à 38 ans, comparant une population bénéficiant uniquement du FCU versus une population bénéficiant d'un FCU et d'un test HPV, a mise en évidence une meilleure sensibilité du test HPV par rapport au frottis qui n'était pas seulement due à un sur-diagnostic d'infections à HPV mais également ou au moins en partie liée à la détection précoce de lésions qui n'auraient pas régressé [77]. Par contre, l'essai ARTISTIC, réalisé en Angleterre qui portait sur 24 510 femmes, n'a pas mis en évidence plus de CIN 2 ou 3 détectées par l'association test HPV et frottis plutôt que par frottis seul [78]. Devant une valeur prédictive négative élevée de l'association test HPV-FCU proche de 100%, certains auteurs ont suggéré son utilisation systématique, afin de permettre d'élargir l'intervalle entre les tests, avec une sensibilité plus élevée par rapport au dépistage conventionnel [73].

D'autres auteurs ont proposés l'utilisation seule du test HPV dans le dépistage du caner du col de l'utérus. Ainsi les études réalisées en situation de dépistage primaire montraient lors de la comparaison du test HPV au FCU [79-80] :

- une sensibilité du test HPV variant de 88 à 98% pour la détection des ASC-US et de 96 à 100% pour les HSIL
- une sensibilité du frottis variant respectivement de 42 à 78% pour la détection des ASCUS et de 60 à 86% pour les HSIL
- une spécificité du test HPV variant de 72 à 96% pour la détection des ASC-US et de 16 à 87% pour les HSIL
- une spécificité du frottis variant de 82 à 98% pour la détection des ASC-US et de 82 à 99% pour les HSIL
- une valeur prédictive négative du test HPV proche de 100%.

Au total, le test HPV semblait de sensibilité supérieure à celle du frottis mais de spécificité inférieure.

- Recommandations

- ✓ Aux Etats-Unis

Seule la FDA a approuvé l'utilisation du test HPV en association au FCU dans le dépistage primaire du cancer du col, il est réservé aux femmes de plus de 30 ans et ne doit pas être répété à un intervalle inférieur à 3 ans en cas de résultats négatifs de la cytologie et du test HPV.

Une étude américaine critique face à cette recommandation de la FDA était parue en mars 2009, portant sur l'évaluation du test HPV en association avec le frottis dans le dépistage du cancer du col, de janvier 2003 à avril 2008, a analysé 797927 co-tests réalisés dans une large population de femmes dépistées de plus de 30 ans [81]. 6,27% de l'ensemble des co-tests dépistaient une infection à HPV cancérigène et 3,99% des co-tests qui avaient une cytologie normale retrouvaient une infection à HPV cancérigène. En parallèle, 5,18% des co-tests trouvaient un ASC-US ou un HSIL sur le frottis et 2,87% de ces co-tests ne retrouvaient pas d'infection à HPV cancérigène. La détection d'infections à HPV cancérigènes était plus faible dans cette étude qu'au cours d'autres études portant sur de plus petits effectifs.

- ✓ En France

L'utilisation du test HPV associé au frottis en première intention fait débat. Certains experts préconisent une optimisation du dépistage actuel et une évaluation du test HPV dans un modèle médico-économique adapté au contexte français. Ils estiment que l'introduction de ce test pour le dépistage primaire est prématurée ou non justifiée car de nombreuses inconnues persistent :

- la baisse de l'incidence du cancer du col n'est pas prouvée
- des études d'intervention sont nécessaires, pour définir les modalités de prise en charge des femmes (en particulier en cas de cytologie normale et de test HPV positif), l'impact sur les pratiques et l'impact psychologique sur les femmes dépistées.

D'autres experts soutiennent la réalisation du test HPV associé au frottis en première intention [80]. Ils considèrent que le test HPV ne devrait être proposé qu'aux femmes de plus de 30 ans, étant donné la fréquence de l'infection avant cet âge et son caractère le plus souvent transitoire.

En 2002, l'ANAES ne recommandait pas la recherche d'HPV en première intention dans les lésions de bas grade, en raison du taux élevé de positivité dans ces types de lésions. Par

contre, elle recommandait la recherche d'HPV potentiellement oncogènes dans le triage des ASC-US avec remboursement par l'assurance-maladie, afin d'éviter aux femmes non infectées par HPV oncogène une colposcopie inutile.

Actuellement, de nombreux gynécologues proposent la recherche d'HPV en première intention dans le suivi post-thérapeutique des CIN 2-3 conformément aux recommandations du Collège National des Gynécologues Français (sans remboursement par l'assurance maladie). La vaccination relance ce débat, en diminuant la prévalence des anomalies cytologiques sur les FCU [80].

Ainsi l'introduction des tests de détection des ADN de l'Human Papilloma Virus (HPV) dans la pratique clinique a fait naître l'espoir d'améliorer encore plus l'efficacité du triage primaire du cancer du col et de la surveillance post-traitement. Les essais cliniques randomisés publiés récemment ont démontré que le test HPV pouvait être efficacement intégré dans les dépistages primaires, soit comme un complément à la cytologie ou en tant que principal et unique test. Il a également été démontré que la détection de l'ADN à HPV pouvait être utilisé pour le triage des femmes avec anomalies équivoques en cytologie avec un rôle potentiel dans l'identification des femmes à risque de maladie résiduelle ou récidivante après traitement pour CIN. Toutefois, elle échouait dans le triage des lésions de bas grade et même si elle était appliquée comme un test de dépistage primaire, il serait nécessaire d'avoir un marqueur de triage de la maladie plus spécifique, pour identifier les femmes qui ont besoin de subir une colposcopie.

En outre, un seul test HPV positif, bien qu'il puisse confirmer l'infection par le virus (il est présent dans 99% de tous les cancers du col de l'utérus), il ne fait aucune discrimination entre les infections transitoires et les infections chroniques. La discrimination entre les deux types d'infection est cruciale car c'est la persistance de l'infection qui prédispose à la progression de la néoplasie cervicale, et non pas l'infection transitoire. C'est l'évaluation du bénéfice médical et économique qui a conduit à la mise en place de recommandations pour une utilisation pertinente des techniques de dépistage disponibles.

3. COLPOSCOPIE

Introduite par Hinselmann en 1925, la colposcopie est l'examen du col utérin au fort grossissement à l'aide d'un microscope binoculaire sans préparation (leucoplasie, vascularisation), puis après badigeonnage à l'acide acétique à 3 % (acidophilie), puis au lugol fort (iodonégativité).

Une colposcopie est un examen de deuxième intention, réalisé devant la présence ou la persistance de frottis cervico-utérins pathologiques. Elle permet l'évaluation de la jonction squamo-cylindrique. Elle a pour objectif de reconnaître les aspects normaux de la zone de transformation, les modifications non significatives (polypes, inflammation...), les lésions significatives (lésions à HPV et néoplasies intra-épithéliales cervicales) et enfin les modifications hautement significatives évoquant un cancer invasif débutant ou franc.

Son degré de sévérité est apprécié grâce aux critères colposcopiques apparus sous acide acétique et lugol. Les lésions sont classées en transformation atypique de grade 1 (TAG 1) et de grade 2 (TAG2) selon la classification de la société française de colposcopie et de pathologie cervico-vaginale. Elle guide ainsi les prélèvements biopsiques et aide à poser les indications thérapeutiques. La colposcopie n'est pas recommandée comme outil de dépistage mais permet d'apprécier la gravité des lésions et de diriger la biopsie pour aboutir au diagnostic histologique [70].

La sensibilité de la colposcopie au diagnostic des dysplasies cervicales était réputée comme étant très élevée, mais depuis une dizaine d'années, les différentes études réalisées retrouvent pour la colposcopie une sensibilité de détection des dysplasies de haut grade de l'ordre de 60%. Pour ce qui est de la spécificité, celle-ci est médiocre, inférieure à 50 %. Donc, sa capacité à prédire avec exactitude une lésion est de l'ordre d'une chance sur deux, limitant pour certains auteurs son indication à celle d'un examen topographique pour diriger la biopsie (tableau 7).

<i>Etudes</i>	<i>Effectifs</i>	<i>Sensibilité</i>	<i>Spécificité</i>
Michell, 1998 [82] Méta analyse (corrélation impression colposcopique / résultat biopsie)		96% N vs aN 85% N+BG vs HG+K	48% N vs aN 69% N+BG vs HG+K
Olaniyan 2002 [83] Méta analyse (corrélation impression colposcopique / résultat biopsie)		87 à 99% N vs aN 30 à 90% N+BG vs HG	26 à 87% N vs aN 67 à 97% N+BG vs HG
Thon, 2002 [84] Essai prospectif (comparaison impression colposcopique / résultat biopsie)	80	96% pour HG	19% pour HG
Massad et Collins, 2003 [85] Essai prospectif (corrélation impression colposcopique / résultats biopsie)	2112	89% N vs aN 56% pour HG	52% N vs aN
Sideri, 2004 [86] (corrélation impression colposcopique sur cervigramme / résultat histologique)	100	54% pour HG	88% pour HG
ALTS group, 2003 [87,88] Essais prospectifs randomisés (surveillance FCU et colposcopie sur 2 ans)	3588 ASCUS 1572 LSIL	54% pour CIN3 56% pour CIN3	
Ferris et ALTS group, 2004 [89] Essais prospectifs randomisés (Corrélation impression colposcopique entre colposcopistes et experts / résultats histologiques)	2085	62% à 91,7% pour BG+HG 23% à 34,7% pour HG	
Cantor, 2008 [90] Essai prospectif (corrélation impression colposcopique / résultat biopsie)	1850	71 à 98% pour HG, en diagnostic 19 à 28% pour HG, en dépistage	45 à 81% pour HG, en diagnostic 87 à 96% pour HG, en dépistage

Tableau 7 – Sensibilité et Spécificité de la colposcopie dans la littérature (N=normal, aN=anormal, BG=lésion de bas grade, HG=lésion de haut grade, K=cancer)[82-83-84-85-86-87-88-89-90].

Pour ce qui est de la variabilité intra et inter-observateurs, on retrouve d'importants écarts. L'intensité de cette concordance est mesurée par le test de kappa, qui est d'autant plus élevé que proche de 1.

Le tableau 8 rapporte quelques études qui illustrent cette importante variabilité intra et inter-observateurs dans le diagnostic colposcopique [86-89-91-92-94-95].

<i>Auteur</i>	<i>Critère étudié</i>	<i>kappa intra-observateur</i>	<i>kappa inter-observateurs</i>
<i>Sellors, 1990 [91]</i>	Zone de jonction vue	0,7 – 0,9	0,37 – 0,79
<i>(50 cas sur diapos, 3 colposcopistes confirmés)</i>	Surface de la zone de transformation	0,35 – 0,38 (faible)	0,34 – 0,36 (faible)
	Contours de la ZTA	0,26 – 0,58	0,13 – 0,41
<i>Hopman, 1995 [92]</i>	Impression colposcopique	0,54 (moyenne)	0,41 (moyenne) puis 0,33 (faible)
<i>(12 cas sur diapos)</i>	Site de la biopsie	0,85	0,77
<i>Etherington, 1997 [93]</i>	Impression colposcopique		0,17 si FCU inconnu 0,21 si FCU connu
<i>(20 diapos)</i>			
<i>Sideri, 2004 [86]</i>	Surface de la zone de transformation		0,9 (excellente)
<i>(100 cervigrammes)</i>	Zone de jonction vue		0,5 (acceptable)
	Autres variables		0,3 (faible)
<i>Ferris et ALTS group, 2004 [89]</i>	Impression colposcopique entre colposcopistes et experts		0,2371 (faible)

Tableau 8 – Variabilité intra et inter-observateurs du diagnostic colposcopique dans la littérature [86-89-91-92-93].

Certains auteurs [96] se sont eux intéressés à la valeur diagnostique de l'impression visuelle seule après coloration à l'acide acétique et sa validité en matière de dépistage du cancer du col en comparaison aux résultats de la colposcopie classique. Parmi 350 de leur patientes dépistées par FCU, des évaluations par coloration à l'acide acétique seule et par examen colposcopiques classiques ont été utilisés chez 50 de ces femmes. Les résultats des tests cytologiques ont été comparés aux résultats colposcopiques. La comparaison des résultats de

l'impression colposcopique après à acide acétique seul ont été comparés à ceux de la cytologie retrouvait une sensibilité de 82,14%, une spécificité de 50,00%, une valeur prédictive positive (VPP) à 67,64%, et une valeur prédictive négative (VPN) de 68,75%. Lorsque les résultats du test de coloration à l'acide acétique seul ont été comparés à ceux de la colposcopie classique, il y avait une sensibilité de 85,29%, une spécificité de 68,75%, une valeur prédictive positive de 85,29%, et une valeur prédictive négative de 68,75%.

Dans une optique de dépistage du cancer du col, la sensibilité du test de coloration à l'acide acétique était élevée, alors que la spécificité correspondante était seulement à un niveau acceptable avec des VPP et VPN élevées. Ainsi l'inspection visuelle du col utérin avec l'acide acétique serait une méthode de dépistage intéressante pour la phase initiale du cancer du col et semblerait être une méthode efficace et rentable pour détecter les dysplasies de haut niveau dans des pays sous développés, aux moyens modestes.

D'autres auteurs [97] se sont eux penchés sur l'évaluation des différences colposcopiques entre les lésions cervicales avec recherches d'HPV-HR positifs et celles avec recherches d'HPV-HR négatifs, car comme nous le savons l'infection à un HPV de haut risque est le facteur nécessaire dans le développement des lésions cervicales de haut grade du col utérin. Il s'agissait d'une étude rétrospective cas-témoins menée au Pays-Bas portant sur un effectif de 507 patientes. Les auteurs ont conçu un système de notation basé sur des critères colposcopiques pouvant être pertinents pour distinguer les infections cervicales aux HPV-HR. Le test HPV a été effectué dans le mois qui suivait l'examen colposcopique. Ainsi la visibilité de la zone de transformation, la présence de ponctuations ou orifices glandulaires larges et irrégulières, et d'une lésion de grande taille (> 25% de la surface visible du col de l'utérus) étaient plus souvent associées à un statut HPV-HR positif ($p=0.001$, [OR]=2,29; $p=0.036$, [OR]=2,37, et $p=0.044$, [OR]=1,78 ; respectivement). Ainsi ces trois éléments colposcopiques étaient les principales caractéristiques associées au statut positif aux HPV-HR.

L'examen colposcopique reste une étape essentielle dans la prise en charge des patientes porteuses de dysplasies cervicales, elle joue un rôle localisateur des anomalies les plus sévères afin de diriger les biopsies cervicales sur les lésions de plus haut grade.

4. BIOPSIE CERVICALE ET EXAMEN HISTOLOGIQUE

Finalement, la biopsie cervicale représente l'étape ultime du diagnostic. En France, elle est faite le plus souvent sous le contrôle d'un examen colposcopique et après un frottis anormal. La biopsie est faite sur la partie la plus suspecte de la lésion et qui se trouve la plus proche de la jonction pavimento-cylindrique. La biopsie doit ramener à la fois un épithélium de surface et un stroma sous-jacent pour permettre de porter le diagnostic d'une lésion purement intra épithéliale ou d'une lésion envahissant le stroma. Elle doit comporter un matériel interprétable, c'est-à-dire ne pas présenter de signes de thermocoagulation, et être fixée rapidement pour permettre une inclusion et une coloration de bonne qualité. L'examen histologique du prélèvement permet de poser un diagnostic de certitude quant au type de lésion, par étude microscopique de l'architecture cellulaire [70].

Dans une grande étude randomisée multicentrique réalisée aux Etats-Unis (ASCUS-LSIL Triage Study=ALTS) [87-94], l'interprétation d'échantillons d'histologies cervico-utérines par plusieurs pathologistes bien entraînés a été évaluée sur une période d'étude de 2 ans et sur 4948 frottis ASCUS ou LSIL, aboutissant à la réalisation de 2237 biopsies colposcopiques et 535 conisations. Ces pièces histologiques ont été analysées dans un premier temps dans 7 centres d'anatomopathologie locaux et ont subi un contrôle par un des 4 groupes de pathologistes de référence. Les patientes étaient prises en charge selon l'interprétation de l'équipe locale, l'analyse du groupe contrôle n'était révélée qu'en cas de CIN3 et cancer invasif initialement sous évalué.

Sans surprise, la plus grande discordance était retrouvée dans le groupe ASCUS avec un taux de 47,1% seulement de confirmation dans le groupe contrôle. Une autre source de discordance concernait les HSILs, avec seulement 47,1% de concordance. Les meilleures concordances étaient retrouvées dans les diagnostics extrêmes (négatif ou \geq CIN2) avec des taux respectifs de 90,8% et 76,9%, alors que seules 43,8% des CIN1 étaient confirmées à l'examen de contrôle.

Les résultats d'interprétations des dysplasies cervicales ainsi comparés retrouvaient une reproductibilité des interprétations histopathologiques médiocre. Pour les différents types de dysplasies, l'interprétation était significativement aggravée dans les centres locaux, en comparaison à l'interprétation contrôle ($\kappa=0,46$; CI à 0,44-0,55 pour les biopsies à l'emporte pièce et $\kappa=0,49$; CI à 0,43-0,49 pour les pièces de conisations ; $p=0,001$). Le taux de concordance était le plus faible pour les dysplasies de bas grade (tableau 10).

<i>Type de comparaison</i>	<i>Type d'échantillon</i>	<i>Coefficient kappa</i>	<i>P</i>
<i>Négatif vs ASC-US</i>	Biopsies sous colposcopie	0.47 (0.44-0.50)	0.001
	Conisation	0.46 (0.36-0.55)	0.001
\leq <i>ASC-US</i> vs \geq <i>LSIL</i>	Biopsies sous colposcopie	0.55 (0.52-0.58)	0.001
	Conisation	0.52 (0.44-0.60)	0.001
\leq <i>LSIL</i> vs \geq <i>HSIL</i>	Biopsies sous colposcopie	0.68 (0.64-0.71)	0.081
	Conisation	0.69 (0.63-0.75)	0.001

Tableau 9 – Evaluation de la concordance d'interprétation anatomopathologique en fonction du diagnostic cytologique [88].

Lors d'une autre étude Américaine, la concordance entre observateurs, de six histopathologistes évaluant 125 pièces de biopsies colposcopiques, selon le système de l'OMS et le système de Bethesda modifié, s'était avérée mauvaise avec les deux systèmes de notation [95]. De même, une étude britannique a fait apparaitre une mauvaise concordance entre huit histopathologistes experts pour l'examen de 100 pièces de biopsies colposcopiques (valeur non pondérée de kappa=0,358) [98].

5. CONCORDANCE CYTO-COLPO-HISTOLOGIQUE

Le diagnostic de dysplasie cervicale a autant de chance d'être exact qu'il y a une importante concordance cyto-colpo-histologique. Mais en pratique, le diagnostic des néoplasies intra épithéliales n'est guère aisé et sa reproductibilité est peu élevée, surtout pour ce qui est des CIN2.

a. Concordance cyto-colposcopique

A titre systématique, en dehors d'un frottis d'alerte, la colposcopie voit trop d'anomalies (le col parfait est rare) ce qui conduit à un surcroit de biopsies et d'inquiétude pour la patiente.

Le problème se situe dans l'association cytologie anormale – colposcopie normale. Plusieurs explications sont possibles :

- Quand il n'y a pas de CIN, c'est soit un faux positif de la cytologie, soit une disparition de la CIN.

- Quand il y a réellement une CIN, c'est soit un faux négatif de la colposcopie (lésion trop petite, endocervicale non vue), soit un faux négatif de l'histologie (plus rare).

Cette situation n'est pas rare, estimée dans la littérature entre 9 et 30%. L'attitude adoptée est variable : conisation pour certains, micro-colpo-hystérocopie et / ou curetage pour d'autres, ou enfin une simple surveillance. Cette dernière attitude est pour le moins nécessaire, puisque selon des études déjà anciennes notamment la série de Hellberg [99], à 10 ans 22% de ces cas présentaient une CIN.

Benedet [100], dans un programme de qualité en Colombie-Britannique en 2004, a estimé sur les données de 84244 patientes, que la concordance entre impression colposcopique et cytologique à un degré près était de 90% (la colposcopie a trouvé que la cytologie sous-estimait le diagnostic dans 1,5% des cas et surestimait dans 8,3% des cas). La concordance entre le résultat histologique des biopsies dirigées sous colposcopie et la cytologie à un degré près était de 82% (la cytologie avait sous-estimé le résultat histologique dans 2,3% des cas et surestimé dans 16,1% des cas). Les performances de la colposcopie étaient d'autant meilleures que le degré de dysplasie évoqué au FCU était sévère. La combinaison frottis-colposcopie optimisait les résultats diagnostiques.

Dans une étude récente, Adamopoulou et son équipe [101] ont évalué simultanément l'efficacité des quatre méthodes d'explorations des anomalies cervicales (cytologie, colposcopie, typage moléculaire d'HPV et la détection de biomarqueurs dans les biopsies du col utérin) afin de définir la combinaison la plus efficace. L'étude comprenait 62 femmes avec frottis anormaux et des lésions cervicales allant de la cervicite et condylomes à des lésions de néoplasies intra-épithéliales et cancers invasifs. Toutes les femmes ont subi une évaluation complète par colposcopie-biopsie, identification immunohistochimique des biomarqueurs (p16, p53, Bcl-2), ainsi que la détection moléculaire des génomes à HPV. La cytologie et la colposcopie ont montré une très grande sensibilité dans la détection des CIN et cancers (91,7% et 94,4%, respectivement), mais une faible spécificité (34,6% et 50%, respectivement). La détection des trois biomarqueurs atteignait une sensibilité impressionnante (83,3%) et une spécificité modérée (65,4%). La détection du HPV atteignait 77,8% de sensibilité, et la plus grande spécificité de 80,8% dans la détection des CIN et des cancers. La détection d'ADN à HPV avait la plus grande valeur prédictive positive (84,9%; 95 IC [67,4% - 94,3%]) et la cytologie la plus basse (66,0%; 95 IC [51,2% - 78,4%]). Le couplage du typage HPV et la colposcopie s'était avéré être la combinaison la plus efficace,

augmentant la sensibilité à 97,2% avec une valeur prédictive négative de 92,3%. Le risque de néoplasie cervicale intra-épithéliale de haut grade ou de cancer chez les femmes avec un typage HPV à haut risque était augmenté d'environ 15 fois, et de 23 fois en cas de combinaison à des biomarqueurs positifs, et surtout de 35 fois en cas de néoplasie cervicale colposcopiquement détectée.

b. Concordance colpo-histologique

La concordance colpo-histologique est notée dans 57 à 84% des patientes. Pour Massad et Collins [85], la concordance entre impression colposcopique et résultat histologique à la biopsie était exacte dans seulement 37% des cas et à un degré près, dans 75% des cas.

L'impression colposcopique surestimait l'histologie de la biopsie dans 26 à 31% et la sous-estimait dans 5 à 16%. Pour Ferris et ALTS group [89], la colposcopie sous-estimait le diagnostic histologique dans 16,1% à 25,3% des cas et le surestimait dans 19,8% à 44,7% des cas pour des colposcopistes ou des experts respectivement. L'impression colposcopique était en accord avec le résultat de la biopsie dans seulement 36,6% des cas pour les colposcopistes, et dans 54,8% des cas pour les experts. Les taux de faux négatifs de la colposcopie étaient de 1 à 10%, et les taux de faux positifs de la colposcopie étaient de 10 à 21% (tableau 9).

<i>Auteur</i>	<i>Effectif</i>	<i>Diagnostic exact</i>	<i>A un degré près</i>
<i>Boulangier 1999 [102]</i>	50	60,3% pour les experts 38% pour les praticiens 30,8% pour les novistes	79,1% pour les experts 71,1% pour les praticiens 55,9% pour les novistes
<i>Massad et Collins, 2003 [85]</i>	2112	37%	75%
<i>Ferris et ALTS group, 2004 [89]</i>	2085	36,6% pour les colposcopistes 54,8% pour les experts	

Tableau 10 – Concordance impression colposcopique / résultat histologique dans la littérature [85-89-102].

Higgins [103] retrouvait compte à lui un coefficient de concordance kappa à 0,09 lors de la comparaison entre impression colposcopique et résultat histologique. Ainsi, en cas de diagnostic colposcopique de col normal ou de bas grade, il y avait tout de même 20% de haut grade en histologie.

La taille de la lésion visualisée à la colposcopie semblait être également un facteur important à prendre en compte par le clinicien pour juger de la pertinence du diagnostic histologique obtenu sur la biopsie dirigée, surtout dans les stades intermédiaires de néoplasies intra-épithéliales. En effet, Pretorius [104] a montré que la sensibilité de la biopsie dirigée par colposcopie pour le diagnostic de CIN2 est significativement plus élevée si la lésion occupait plus de 2 quadrants du col (Sensibilité = 81.3%) que si elle intéressait 2 quadrants ou moins (Sensibilité = 49 %). La taille de la lésion semblait également être un facteur pronostique de gravité d'une lésion du col. Pretorius et son équipe notaient que chez 375 femmes porteuses d'une lésion de CIN2, seulement 5.8 % des lésions de CIN2 intéressaient plus de 2 quadrants, alors que près de 30% des CIN3 occupaient plus de 2 quadrants ($p < 0.0001$).

L'expérience et la formation des médecins réalisant la colposcopie paraissait également être primordiale. Mendoza au Mexique [105], a évalué au sein de son équipe peu entraînée à la colposcopie, la concordance entre la sévérité des anomalies colposcopiques et histologiques chez 3142 patientes ayant eu une conisation. 349 conisations étaient réalisées chez des patientes de moins de 25 ans (11,11%), et 10 de moins de 17 ans, sans indication justifiée. L'évaluation colposcopique avait trouvé 2598 (82,68%) cas d'anomalies (LSIL, HSIL, cancer épidermoïde ou adénocarcinome). Parmi ces cas, seuls 1163 avaient une vérification histopathologique. Ainsi la corrélation colpo-histologique était de 44,77%. Il a donc retrouvé dans son étude, une sensibilité de 71,79%, une spécificité de 5,72% (très faible), une valeur prédictive positive de 44,75% (faible) et une valeur prédictive négative de 15,99% (très faible).

Une étude récente, réalisée par Boonlikit en Thaïlande [106] a analysé la corrélation de l'indice diagnostic de la colposcopie par rapport aux résultats histologiques de la biopsie dirigée par colposcopie ainsi que sa précision dans la différenciation entre des lésions intra-épithéliales squameuses de haut grade (HSIL) et des lésions de bas grade (LSIL). Il s'agissait d'une étude rétrospective portant sur des femmes qui présentaient des examens cytologiques anormaux et qui ont donc subi une colposcopie sur une période de 3 ans. Les auteurs ont ainsi

évalué l'aptitude au diagnostic des lésions de haut grade des quatre critères colposcopiques reconnus, à savoir l'aspect de la zone de transition, l'aspect du col sans préparation, la présence d'anomalies vasculaires et l'étendue des zones iodonégatives après coloration au Lugol. Ils ont ainsi retrouvé des taux de diagnostics respectifs de 73,0%, 79,0%, 75,0% et 69,2%. La combinaison de ces variables permettait de retrouver une précision diagnostique globale de 89,0%. L'aspect sans préparation du col et les anomalies vasculaires avaient montré un bon pouvoir diagnostique des anomalies histologiques (Kendall Tau C = 0,68 et 0,63, $p < 0,05$).

La colposcopie n'est donc pas un outil de diagnostic parfait et reproductible. La concordance pour un même observateur était variable selon les études, ainsi que les critères étudiés. La variabilité inter-observateurs était très importante. La concordance avec l'histologie était parfois très médiocre. La colposcopie était meilleure pour différencier les dysplasies de bas grade et de haut grade, que pour différencier un col normal d'une dysplasie de bas grade. La concordance cyto-colpo-histologique et le rapport de vraisemblance étaient d'autant meilleur que la dysplasie était sévère. Les études évaluant les performances de la colposcopie démontraient que la colposcopie était un outil opérateur dépendant. Néanmoins, la colposcopie restait actuellement indispensable pour la prise en charge d'un frottis anormal, afin de guider des prélèvements histologiques sur les zones malades du col. Mais celles-ci soulignaient également la nécessité de rechercher des outils diagnostiques plus fiables.

c. Concordance histologique entre biopsie et pièce d'exérèse cervicale

Il était aussi logique de s'intéresser à la concordance des résultats histologiques à la biopsie et sur pièce d'exérèse qui était une manière d'évaluer le rôle topographique de la colposcopie. Seule l'histologie de la pièce opératoire permettait de juger de la parfaite fiabilité de l'évaluation colposcopique : le col était parfois le siège de lésions de grades différents et c'était la correspondance entre le résultat de la biopsie dirigée et l'histologie en coupes sériées de la pièce opératoire, qui permettait d'affirmer que le colposcopiste avait bien fait la biopsie sur la lésion la plus grave.

Dans une revue de la littérature portant sur un effectif de 2472 patientes, menée par Baldauf et Ritter [107], la concordance histologique globale était de 73%. Les résultats des biopsies dirigées sous colposcopie avaient en fait, une exactitude très variable et on retrouvait dans la

littérature, des taux extrêmes d'erreurs variant de 0,3% à 54%. Tout dépendait de la façon de compter. Certains comptabilisaient toutes les erreurs, c'est-à-dire toutes les discordances que ce soit en sous-évaluation ou en surévaluation (41,7% à 54%). D'autres ne comptabilisaient que les erreurs à un degré près, d'autres enfin, ne tenaient compte que des erreurs à un degré près en sous-évaluation. Ils retrouvaient ainsi, un résultat moyen de diagnostics exacts de 47% en cas de bas grade, de 88% en cas de haut grade, de 21% pour les métaplasies et de 96% pour les cancers. Les surévaluations (0,5 à 30%) étaient le fait de lésions de petite taille, que la biopsie avait peut-être enlevée en totalité, ou qui avaient régressé spontanément dans un processus de cicatrisation et de réparation tissulaire consécutif au traumatisme de la biopsie. Les principales causes de sous-évaluation des résultats biopsiques (5 à 30%) étaient la situation endocervicale des lésions lors de colposcopies non concluantes et l'erreur du colposcopiste qui ne faisait pas porter la biopsie sur la lésion la plus sévère.

Récemment, Zlatkov [108] a évalué la précision diagnostique des biopsies dirigées chez des patientes présentant des anomalies cytologiques. Il a analysé chez 60 patientes âgées de 20 à 69 ans (moyenne 37,4), la concordance histologique entre biopsies cervicales et pièces de conisations. Chez 47 (78,3%) d'entre elles, il y avait une coïncidence à un degré près des résultats histologiques. Pour les 13 autres cas, 4 représentaient des faux positifs (6,7%), et 9 représentaient des faux négatifs (15,0 %). La sensibilité était donc de 83% et la valeur prédictive positive de 91,7%, ce qui les plaçait dans de bonnes performances du test diagnostique, mais qui étaient déterminées par la bonne corrélation entre examens cytologiques, colposcopiques et histologiques.

Siegler et son équipe [109] ont également évalué cette concordance histologique entre biopsies cervicales et pièces de conisations dans le cadre d'une étude prospective menée en Israël entre 2001 à 2007 et qui incluait 16 spécialistes en colposcopie sollicités par questionnaires annuels d'évaluation de leurs biopsies cervicales. Sur les 2681 biopsies rapportées, des néoplasies intra-épithéliales cervicales de type 2 et 3 (CIN 2 / 3) et de type 1 (CIN 1), étaient retrouvées respectivement dans 63,2 et 20,5% des pièces de conisations. Des lésions de CIN 2 / 3 ont été détectées dans 111 cas (soit 20,4%) des conisations avec CIN 1 à la biopsie. Ainsi, chez un cinquième des femmes pour qui une CIN1 était l'indication de conisation, on diagnostiquait finalement une CIN2/3. La concordance globale entre les résultats histologiques aux biopsies cervicales et sur pièces de conisations était de 80,15% et la valeur du coefficient de concordance kappa était de 0.536 (accord modéré).

Une autre étude prospective menée par Zuchna et son équipe [110] a évalué la validité des biopsies cervicales dirigées sous colposcopie comme test diagnostique pour définir le degré de sévérité des néoplasies intra-épithéliales cervicales. Il s'agissait d'un essai prospectif multicentrique, où les patientes avaient eu une conisation cervicale précédée d'évaluation colposcopique avec jusqu'à 3 biopsies guidées du col en une seule procédure. Les biopsies du col étaient considérées comme un test de diagnostic pour détecter les lésions de haut grade (CIN 2,3) l'examen de référence était le résultat histologique sur pièce de conisation. Au total, 488 biopsies ont été réalisées dans 244 cas, avec 2 biopsies dans 192 cas. Les biopsies cervicales sous-estimaient la gravité des lésions dans 46,7% des cas. La sensibilité, spécificité et valeurs prédictives positives et négatives ont été respectivement de 66,2%, 95,0%, 98,5%, et 35,5%. Ces données suggéraient donc que les lésions de haut grade (CIN 2,3) soupçonnés histologiquement sur biopsies cervicales étaient confirmées dans une majorité de cas à l'examen histologique sur pièces de conisations, mais dans le cas inverse elles ne pouvaient être exclues.

Ainsi l'évaluation histologique des biopsies du col utérin est souvent considérée comme le Gold-Standard. Mais, il est aujourd'hui démontré qu'elle pouvait être considérablement entravée par la variabilité intra et inter observateurs. L'application de nouveaux marqueurs [111] sur ces échantillons histologiques pourrait améliorer l'identification de lésions cervicales de haut grade, qui exigeraient un traitement, surtout chez des femmes avec des résultats ambigus.

E. L'IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE p16INK4a

Actuellement l'objectif de la recherche est centré sur le développement de biomarqueurs permettant de distinguer les transformations liées à des infections au HPV et de prédire la gravité de la maladie. La protéine cellulaire suppresseur de tumeur p16INK4a a été identifiée comme un biomarqueur de transformation des infections à HPV [112-113-114].

1. PHYSIOPATHOLOGIE

Dans de nombreuses entités tumorales, le gène de la protéine p16INK4a suppresseur de tumeur s'est avéré être fonctionnellement inactif par mutation génétique, ou par

hyperméthylation de son promoteur. Il est donc apparu que l'inactivation de ce gène contribuait à la dérégulation du cycle cellulaire et à la perte du contrôle de la prolifération cellulaire.

Il a été démontré, dans les cellules épithéliales cervicales capables de se diviser, une forte augmentation de l'expression de la protéine p16INK4a lorsque les oncoprotéines du papillomavirus à haut risque (HPV-HR) avaient initié le processus de transformation cellulaire [1115-1116]. Cette forte surexpression de p16INK4a s'avérait étroitement associée au niveau d'activité moléculaire des oncoprotéines E7 des HPV-HR. Il a ainsi été démontré que la surexpression de p16INK4a reflétait l'inactivation médiée par les oncoprotéines E7 du complexe fonctionnel, entre la protéine du rétinoblastome (pRb) et le facteur de transcription E2F, qui constitue l'un des événements essentiels au cours de la transformation cellulaire induite par le HPV-HR [1117-1118-1119].

Les cellules basales normales de l'épithélium épidermoïde du col utérin sont les cellules souches qui forment une population avec un lent auto-renouvellement [120]. Ces cellules subissent une division cellulaire asymétrique, la production d'une cellule souche pour l'auto-remplacement et une transition des cellules d'amplification qui se déplacent dans la couche des cellules parabasales. Les cellules souches ont un temps de génération du cycle cellulaire de 30 jours et un indice MIB-1 de 0-7%. En revanche, le temps de génération de cellules parabasales est de 3 jours, et l'indice de marquage MIB-1 atteint jusqu'à 30% [121]. Les deux types de cellules peuvent exprimer différents biomarqueurs (Figure 20) [122]. Toutes les cellules filles, qui migrent vers la surface, sont soumises à la différenciation et l'expression de la cytokératine 13 et l'involucrine avant d'être exfoliées.

Le cycle de vie des HPV est lié à la biologie des cellules de l'hôte formant la zone de transformation du col utérin. En situation clinique, le HPV peut persister, dérégler ou endommager les cellules avec progression vers un phénotype dysplasique ou malin [123-124]. Comme nous l'avons développé précédemment (*Cf paragraphe B.1 : L'INFECTION A PAPILLOMAVIRUS HUMAIN (HPV)*), normalement les particules virales pénètrent dans la cellule par l'une des molécules d'adhésion de la matrice cellulaire, telles que l'alpha-6 beta-4 intégrine pour le HPV-16. L'ADN viral peut, soit rester épisomique et contribuer à la phase végétative ou de production virale, ou après une rupture virale au niveau des régions E1/E2 être accidentellement intégré dans l'ADN de la cellule hôte. La réplication virale est associée

à l'expression de gènes viraux de la capsid L1 et L2 [125]. Cette étape englobe la traduction de l'ARNm d'HPV viral en protéines, par réplication, encapsidation, maturation et la libération de particules de la charge virale à travers la lyse de la cellule hôte dans le but de ré-initier le cycle d'infection. La majorité des infections aiguës des voies productives guérissent spontanément en quelques mois, avec une durée plus longue pour les HPV-HR que les HPV-BR. Dans les cas où l'infection à HPV reste, le génome de l'HPV s'attache à la chromatine de l'hôte, via la protéine F2. Ce mode de captation pour la réplication nécessite seulement un faible niveau d'expression et conserve l'ADN du HPV, et ainsi élude la détection par le système immunitaire. La transcription des deux oncoprotéines virales, E6 et E7, s'ensuit. Contrairement aux lésions de bas grade, dans les lésions de haut grade, E6 et E7 sont régulées à la hausse et sont vivement exprimées. En même temps, la cellule hôte se transforme et devient plus sensible aux facteurs internes mitogènes, qui selon certains auteurs correspondrait à une stimulation de la croissance autocrine. L'oncoprotéine E6 favorise la dégradation de la protéine suppresseur de tumeur p53 par son interaction avec E6AP, une E3 ligase ubiquitaire. E7 se lie à une autre protéine suppresseur de tumeur, la protéine du rétinoblastome (pRb) et libère le facteur de transcription E2F et donc surmonte le bloc par les suppresseurs de tumeurs pRb (Figure 21). L'inactivation de ces deux protéines suppresseurs de tumeurs est un phénomène courant dans de nombreux cancers HPV-HR indépendants, et reflète simplement l'importance de ces voies moléculaires de l'homéostasie de la cellule normale (Figure 20).

La surexpression de la protéine p16INK4a est attribuée à une interférence entre l'expression de l'oncogène viral E7, qui s'associe au produit du gène pRb. Le gène pRb est habituellement lié à E2F, qui bloque l'activation du cycle cellulaire par un mécanisme de phosphorylation. La phosphorylation du gène pRb est, en général, induite par des kinases qui sont cyclines dépendantes (CDK4, CDK6) et qui sont contrôlées par des inhibiteurs des kinases (INKs). D'importantes perturbations cellulaires sont induites par la plupart de ces infections au HPV liées à leurs oncoprotéines E6 et E7, surtout au niveau de la liaison du gène du pRb au facteur de transcription E2F, et favorisant ainsi la progression du cycle cellulaire. Un interrupteur moléculaire est habituellement activé par les kinases cycline-dépendantes CDK4/CDK6. La libération d'E2F induite par le lien entre l'oncoprotéine E7 et le gène pRb aboutit à un important rétrocontrôle négatif sur la répression de la transcription du gène de la p16INK4a [105-106-107]. La protéine p16INK4a est un inhibiteur des kinases cycline dépendantes, qui joue un rôle essentiel dans la régulation du cycle cellulaire eucaryote. Elle fait partie du

contrôle médié par la protéine du Rétinoblastome (pRb), de la transition des phases G1-S et déclenche l'interruption du cycle cellulaire au cours des processus de différenciation. Dans le cas des cellules épithéliales définitivement différenciées, l'expression de la protéine p16INK4a est normalement régulée à la baisse, à des niveaux qui ne sont généralement pas détectables par immunohistochimie.

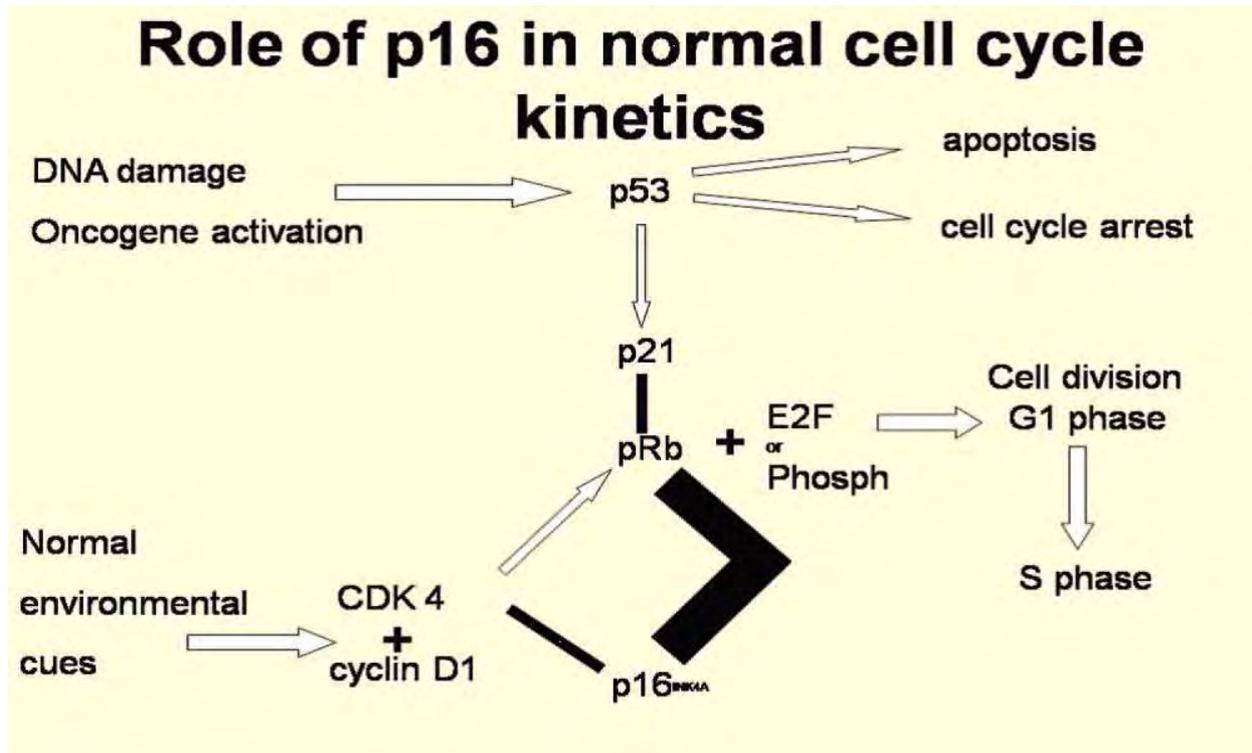


Figure 20 – Les fonctions de la cellule normale sont régies par deux voies moléculaires clés, la cascade de la p53 et celle du rétinoblastome (Rb). La protéine du rétinoblastome exerce un rétrocontrôle négatif sur la division cellulaire par l'intermédiaire de la protéine p16INK4a, un inhibiteur des kinases cycline-dépendantes (CDK) 4 et 6 [119].

2. ASPECTS TECHNIQUES EN IMMUNOHISTOCHEMIE

- Méthode de détection

Les pièces de biopsies cervicales fixées au formol et incluses en paraffines sont coupées, déposées sur des lames de verres et déparaffinées. Un réactif à base d'anticorps monoclonaux visant spécifiquement la protéine p16INK4a et un réactif témoin négatif composé d'un anticorps du même isotype (IgG2a) sont utilisés. Actuellement, il est conçu pour les procédures de marquages immunohistochimiques des automates d'immunomarquages Ventana BenchMark [126-127].

L'anticorps primaire spécifique de la protéine p16INK4a et un anticorps secondaire lié à une enzyme sont utilisés successivement. La réaction chromogène se base sur une conversion médiée par la peroxydase de raifort d'un chromogène DAB en produit, la réaction est visible au niveau du site de liaison antigène-anticorps. Après contre-coloration, la lame peut être recouverte d'une lamelle et les résultats peuvent être évalués sous microscope optique. Il est préféré d'interpréter les lames marquées pour la recherche de la protéine p16INK4a en relation avec des lames de colorations à l'hématoxyline éosine (H&E) préparées à partir de la même pièce de biopsie. Les informations complémentaires fournies par les lames de marquage à la protéine p16INK4a doivent être associées au diagnostic morphologique préliminaire, posé sur la base des lames de coloration H&E, pour obtenir le diagnostic final. Cette lecture conjointe des lames H&E composées de coupes de la pièce de biopsie cervicale, et de lames consécutives de la même pièce colorées immunomarquées pour la recherche de p16INK4a apporterait une amélioration de précision de diagnostic et de la concordance entre observateurs dans le diagnostic des néoplasies intra-épithéliales cervicales de haut grade surtout les CIN2 [128].

- Limite de la technique

Les résultats du marquage en immunohistochimie sont dépendants de la qualité des tissus colorés. En conséquence, les étapes de fixation, le lavage, le séchage, le chauffage, la coupe ou la contamination par d'autres tissus contribuent considérablement au résultat global du marquage, et peuvent générer des artéfacts, un piégeage des anticorps ou des faux-négatifs. Des résultats incohérents peuvent être dus à des variations dans les méthodes de fixation et

d'inclusion, ou à des irrégularités inhérentes aux tissus. Une contre coloration excessive ou incomplète peut conduire à une interprétation erronée des résultats. Heureusement, la protéine p16INK4a est un antigène relativement stable et n'est pas trop sensible aux effets délétères du formol, au démasquage de l'antigène ou à un stockage prolongé dans des blocs de paraffine. Les caractéristiques de l'anticorps choisi et le choix du clone p16INK4a spécifique sont données avec moins d'attention dans la littérature publiée [126-127]. Selon ImmunoQuery, au moins 10 clones d'anticorps différents sont actuellement commercialisés, et chacun a une avidité et une affinité différente pour le même antigène p16INK4a. En outre, chaque lot d'anticorps commercialisé possède une concentration efficace d'anticorps différente et, dès réception au laboratoire, la concentration optimale d'exploitation doit être découverte par titration et par les essais de dilutions en série [119].

Des faux positifs peuvent être dus à une liaison non immunologique des protéines ou des produits de réaction du substrat. Ils peuvent aussi être causés par une activité pseudoperoxydasique (érythrocytes) et par une activité peroxydasique endogène (cytochrome C), à une concentration d'anticorps en excès, une fixation inappropriée et à des cellules dégénérées.

L'inspection visuelle seule ne peut pas identifier les causes spécifiques de faux résultats négatifs qui peuvent être attribués à un épitope sous-optimal, un mauvais titrage d'anticorps ou une faible expression de l'antigène cible. Il a été noté que les variations de l'intensité de la coloration avec les divers anticorps commercialisés étaient de degré suffisant pour modifier les interprétations microscopiques. Quelque soit le système adopté, il faut veiller à ce que le seuil de décision pour les résultats positifs et les résultats négatifs maintienne une valeur clinique [119].

L'interprétation des résultats doit tenir compte du fait que la protéine p16INK4a est une protéine cellulaire, qui peut être exprimée à un taux détectable dans les dysplasies cervicales de haut grade et cancers cervicaux, mais aussi dans certaines situations non associées aux dysplasies cervicales, quoique, en quantité différente, et avec un mode d'expression différent. On a suggéré qu'un marquage diffus, c'est-à-dire une coloration continue des cellules des couches basales et parabasales avec ou sans coloration des couches cellulaires superficielles, pourrait indiquer un résultat positif pour la surexpression de p16INK4a. Ce mode de marquage s'est avéré le plus sensible et spécifique des CIN de haut grade. En revanche, un marquage focal (coloration de cellules isolées ou de petits groupes de cellules, non continue

ou absente, en particulier dans les couches basales et parabasales) et l'absence d'immunoréactivité étaient considérés comme un résultat négatif de surexpression de la p16INK4a [119-128]. La figure 22 illustre les différentes modalités de coloration de la protéine p16INK4a.

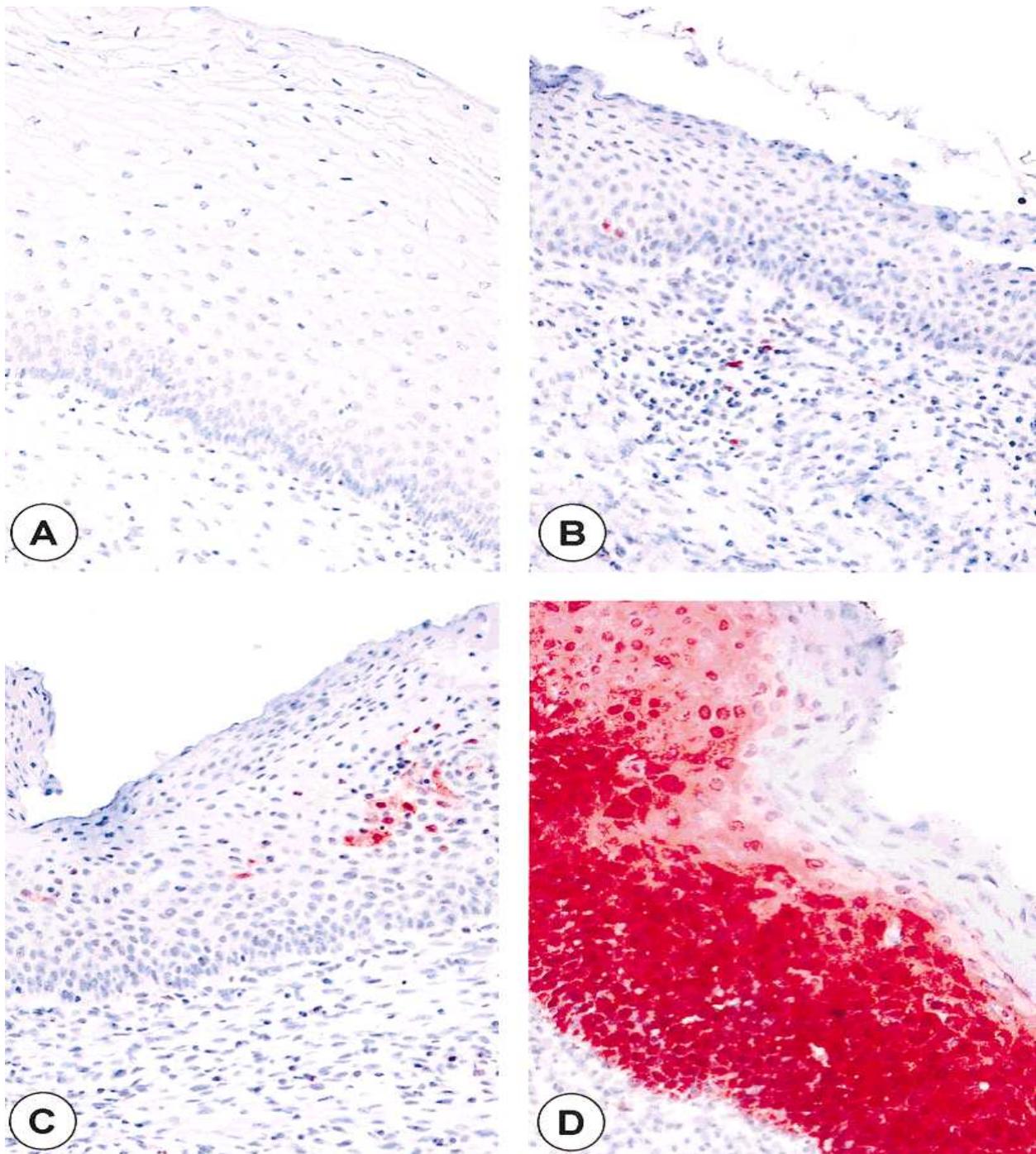


Figure 22 – Modèles de coloration de lésions marquées comme (a) p16INK4a négatif, (b) p16INK4a positif sporadique, (c) p16INK4a positif focal ou (d) p16INK4a positif diffus [128].

3. INTERPRETATION MICROSCOPIQUE EN IMMUNOHISTOCHEMIE

L'immunoperoxydase est bien reconnue pour réduire les variations inter et intra-observateurs dans le diagnostic des lésions cervicales intra-épithéliales. Cependant, l'interprétation microscopique de la p16INK4a est encore soumise à un certain degré de variation d'observateurs. De nombreux articles publiés ont amené le lecteur à croire que les résultats étaient clairs, qu'un marquage diffus indiquait la présence d'un HPV à haut risque, et un marquage focal ou inégal indiquait la présence d'un HPV à bas risque. Certains auteurs ont besoin de seulement 5% des cellules squameuses immunoréactives pour un résultat positif, d'autres exigent 25%, et d'autres encore exigent plus de 50% de cellules marquées. La protéine p16INK4a peut être exprimée dans le noyau, dans le cytoplasme, ou de façon synchrone dans les deux : le noyau et le cytoplasme.

Un résultat de la «coloration négative» peut indiquer l'absence totale de réactivité, mais aussi la coloration de cellules isolées ou de petits amas de cellules non contiguës au-delà de la couche des cellules basales ou parabasales, considérée comme un faux résultat négatif par certains auteurs. Certains auteurs interprètent comme positif une coloration focale, considérée par certains comme des faux-positifs, tandis que d'autres incriminent les HPV à bas risques, les HPV à hauts risques ou une instabilité génétique. Les plus grandes controverses entourent la signification des colorations dites « faible à modérée, des colorations focales, coloration des noyaux et / ou du cytoplasme des couches intermédiaires et des couches superficielles » et « de coloration sporadique à focale limitée à la moitié inférieure de l'épithélium ».

4. AUGMENTATION DE LA CONCORDANCE INTER-OBSERVATEURS ET LA JUSTESSE DU DIAGNOSTIC DES CIN2 ET CIN3

Dans notre pratique médicale, le diagnostic anatomopathologique basé sur les coupes de tissu cervical en coloration (H&E) constitue la base de la décision thérapeutique. L'imprécision du diagnostic a donc des implications considérables. Un diagnostic imprécis peut entraîner une prise en charge inadéquate de la patiente, c'est-à-dire un traitement excessif de femmes globalement en bonne santé, ou un traitement insuffisant de femme porteuses de dysplasies de haut grade établies.

Or, aucun test diagnostique n'est parfait, et l'interprétation des prélèvements histologiques du col utérin reste subjective avec une faible reproductibilité, en particulier dans les CIN1. Cette interprétation diagnostique des coupes histologiques en coloration à l'H&E fait apparaître

d'importantes discordances entre les pathologistes. Depuis plus de vingt ans, diverses publications faisaient état de ce faible taux de concordance inter et intra-observateurs dans l'analyse histologique du col de l'utérus [87-90].

Le marquage de la protéine p16INK4a est présent au niveau des couches basales de l'épithélium malpighien dans les CIN1 et remonte dans les couches intermédiaires et superficielles dans les CIN de haut grade (CIN2 et CIN3). La détection de la protéine p16INK4a pourrait être utilisée pour améliorer la reproductibilité du diagnostic histologique des biopsies CIN1, CIN2, CIN3.

Dans une étude déjà ancienne, Klaes et son équipe [128] ont évalué sur des échantillons de biopsies cervicales, le marquage de la protéine p16INK4a en les mettant en corrélation avec le typage HPV et l'évaluation par H&E des degrés d'anomalies cervicales. L'ensemble des prélèvements histologiques étaient réexaminés par deux experts et classés selon la classification de l'OMS, associé au marquage de la protéine p16INK4a. Parmi les biopsies cervicales avec diagnostic de lésions de haut grade, la quasi-totalité présentaient un immunomarquage diffus de la protéine p16INK4a. Toutes les biopsies cervicales histologiquement normales avaient un marquage p16INK4a négatif, et aucune lésion inflammatoire ou de métaplasie ne mettait en évidence un marquage diffus de la protéine p16INK4a, lorsque ce marquage était positif, il était le plus souvent sporadique (respectivement 21% et 28%) ou focal (respectivement 6% et 10%). C'est parmi les CIN1 que les résultats étaient les plus disparates. Parmi les 41 biopsies CIN1, 61% présentaient un marquage diffus, 21% focal, 4% sporadique, et 14% négatif de la protéine p16INK4a. Parmi elles, on ne notait pas de corrélation réelle avec le typage HPV [128].

Wang et son équipe, en 2004 [113], ont eux évalué l'immunocoloration de la protéine p16INK4a comme un marqueur diagnostique, mais également pronostique du potentiel d'évolution de la néoplasie intra-épithéliale cervicale (biopsies et pièces de conisation) obtenue chez 542 femmes orientées vers une colposcopie lors du suivi dans le projet Guanacaste (1993 à 1994). Toutes les pièces opératoires des 292 femmes classées par leur statut HPV (HPV négatifs, HPV non oncogène positif, ou HPV oncogène positif) et représentant le spectre de diagnostic histologique de la population [de normal à des lésions précancéreuses (CIN3)] ont eu une évaluation de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a. Pour les CIN3, la sensibilité diagnostique de l'immunocoloration diffuse de p16INK4a était de 100% et la spécificité de 95%. Pour les CIN2, la sensibilité et la spécificité

pour un marquage diffus ont été de 81,1% et 95,4%, respectivement. Généralisées à la cohorte de 10.000 femmes, cela se traduisait par une valeur prédictive positive et négative de 13,9% et 100% pour les CIN3, et de 20,4% et 99,7% pour les CIN2 ou CIN3. Parmi les femmes avec un diagnostic initial de lésion moins sévère qu'un CIN2, et pour lesquelles les données de suivi pour un maximum de 5 à 7 années étaient disponibles, parmi celles qui avaient un marquage diffus de la protéine p16INK4a, 44% ont développé une infection persistante (CIN2 ou CIN3). Cette étude confortait ainsi les données sur la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a pour les dysplasies de haut grade [113].

Brenner et son équipe ont mené une étude, en 2002 [115], portant sur 194 biopsies cervicales sélectionnées dans un laboratoire d'anatomopathologie classique. Deux prélèvements successifs ont été effectués à partir des pièces de biopsies. Une première biopsie a été analysée par coloration H&E, et la seconde par marquage p16INK4a. Cinq experts en anatomopathologie cervicale ont analysé ces prélèvements. Quatre prélèvements ont été exclus de part l'absence de lésions sur les échantillons prélevés. La concordance d'interprétation inter et intra-observateurs a été évaluée par analyse statistique kappa. Une importante discordance inter-observateurs a été retrouvée parmi les interprétations sur lames d'H&E, particulièrement parmi les lésions de bas grade (kappa= 0,60; 95% IC [0,58-0,63]). Il y avait une amélioration significative de la concordance d'interprétation avec le marquage p16INK4a (kappa= 0,91; 95% IC [0,84-0,99]).

L'expression de la protéine p16INK4a était limitée aux cancers cervicaux, aux CIN2 et 3, ainsi que les CIN1 associées à un HPV-HR. Le marquage à la protéine p16INK4a augmentait la précision diagnostique aussi bien des petites lésions de dysplasies cervicales, que des cancers du col, et aidait à la réduction des variations inter-observateurs lors des interprétations anatomopathologiques. Le marquage p16INK4a aidait à réduire les faux positifs et les faux négatifs des interprétations sur biopsies, et ainsi améliorait significativement les diagnostics des lésions précancéreuses.

<i>Analyse histologique</i>	<i>% de concordance</i>	<i>Coefficient kappa</i>	<i>95% IC</i>
<i>H&E (six catégories)</i>	69%	0,60	0,58-0,63
<i>H&E (deux catégories)</i>	75%	0,71	0,65-0,78
<i>Normal et CIN1 – Cancer</i>			
<i>p16INK4a en immunohistochimie</i>	96%	0,91	0,84-0,99

Six catégories anatomopathologiques (Normal, Métaplasie, CIN1, CIN2, CIN3, Carcinome invasif); Deux catégories anatomopathologiques (Bas grade et haut grade).

Tableau 11 – Evaluation de la concordance inter-observateur par valeur Kappa et leur intervalle de confiance concernant la corrélation des statuts diagnostiques à l’H&E et la protéine p16INK4a [115].

Récemment, dans une étude impliquant 12 pathologistes européens [129], la détection de la protéine p16INKa par immunohistochimie a permis une amélioration statistiquement significative de la justesse et de la reproductivité du diagnostic de CIN2 et CIN3 par rapport à la coloration par l’hématoxyline-éosine sur 250 biopsies et 250 conisations. Il s’agissait d’une étude clinique contrôlée, réalisée dans le cadre de l’évaluation du système de détection de la p16INK4a CINtec Histology kit, qui avait pour but de démontrer une amélioration de la précision du diagnostic et de la concordance entre observateurs pour la détection des dysplasies de haut grade notamment les CIN2. Trois experts européens en gynécologie pathologique ont porté un diagnostic indépendant sur les lames de coloration à l’H&E. Douze investigateurs de quatre pays d’Europe ont constitué le panel d’histologistes. Une première série d’interprétations a permis de poser un diagnostic sur les lames de coloration à l’H&E. Quatre semaines plus tard, le même panel de lames était représenté aux pathologistes, associé aux lames correspondantes marquées à la protéine p16INK4a. Les résultats de chaque pathologiste comprenant les deux méthodes d’analyse, avec ou sans le marquage de la protéine p16INK4a, ont été ainsi comparés au diagnostic de consensus établi par les trois experts européens en gynécologie pathologique. 482 cas diagnostiqués ont ainsi été inclus dans l’analyse des données. La fréquence des différentes catégories de diagnostics, selon les experts, était la suivante: absence de dysplasie (n=194), CIN1 (n=96), CIN2 (n=69) et CIN3 (n=123). Cette étude retrouvait une amélioration de la précision du diagnostic pour les CIN de haut grade lors d’une lecture conjointe des lames avec coloration à l’H&E et marquage de la protéine p16INK4a par rapport aux lames avec coloration à l’H&E seules, avec comme référence le diagnostic d’expert.

Ils retrouvaient ainsi, avec la lecture conjointe, près de deux fois moins de faux négatifs et plus de vrais positifs, mais au prix d'une légère augmentation des faux positifs. Ce qui correspondait à une amélioration de la sensibilité diagnostique, avec seulement une très légère baisse de la spécificité globale.

<i>Catégorie diagnostique</i>	<i>de Sensibilité H&E</i>	<i>avec Sensibilité avec H&E+ marquage p16INK4a</i>	<i>Amélioration</i>
<i>CIN2+</i>	77%	87%	13%
<i>CIN2 seules</i>	62%	75%	21%
<i>CIN3 seules</i>	86%	95%	11%

Tableau 12 – Evaluation de la sensibilité diagnostique de l'association coloration à l'H&E et marquage p16INK4a par rapport à la coloration H&E seules, avec comme référence le diagnostic d'expert [129].

Cette augmentation de précision du diagnostic pour la détection des CIN2+ a été prouvée de manière indépendante et statistiquement significative pour les sous-groupes des biopsies cervicales à l'emporte pièce (n=249) avec des valeurs de kappa respectives de 0,598 versus 0,748; $p < 0,0001$ et pour les sous-groupes pièces de conisations (n=233) avec des valeurs kappa respectives de 0,548 versus 0,765; $p < 0,0001$.

La fiabilité de l'évaluation du mode de marquage de p16INK4a dans les pièces de tissu cervical parmi les pathologistes du panel (positif diffus à p16INK4a, positif focal à p16INK4a ou négatif à la protéine p16INK4a) a également été évaluée. Ils retrouvaient une grande reproductibilité pour la notation du mode de marquage de p16INK4a comme positif (marquage diffus) ou négatif (marquage focal ou pas d'immunoréactivité). La valeur kappa de reproductibilité entre les 12 pathologistes était excellente (kappa moyen = 0,899; Kappa médian = 0,903).

Tous ces résultats démontraient la nette amélioration de la précision globale de diagnostic histomorphologique de l'association de lames marquées pour la protéine p16INK4a aux lames avec coloration à l'H&E.

5. UTILISATION DE LA PROTEINE P16INK4a COMME MARQUEUR PREDICTIF DE PROGRESSION DES CINs

Le second élément important dans la prise en charge des néoplasies intra-épithéliales était leur risque évolutif vers des lésions de haut grade pour les lésions de bas grade, et vers des lésions invasives pour les CIN3. Pour les lésions de grade, une surveillance pourrait être envisagée pour les lésions à faible potentiel évolutif. La détection de la protéine p16INK4a dans les dysplasies de bas grade (CIN1) semblait être un marqueur prédictif de progression vers des CIN de haut grade, et pourrait permettre de suivre différemment les patientes porteuses de CIN1, selon la détection de la protéine p16INK4a.

Del Pino et son équipe, en 2009 [130], ont réalisé une étude prospective incluant 138 patientes, chez qui un diagnostic de CIN1 a été posé, qui ont été suivies de façon prospective, avec recherche simultanée d'HPV à haut risque oncogène et de la protéine p16INK4a. Le suivi a consisté en un frottis en phase liquide, une coloscopie tous les 6 mois et une recherche d'HPV à haut risque oncogène tous les ans, sur une durée de 12 mois. La progression lésionnelle était définie par un diagnostic histologique de CIN2 ou 3, une régression par un frottis normal, une recherche d'HPV à haut risque oncogène négative, une persistance par un frottis de type LSIL et/ou une recherche d'HPV à haut risque oncogène positive. Une progression était retrouvée chez 14 patientes (10,1%), 66 lésions avaient régressées (47,6%), et 58 d'entre elles avaient persistées (42%). La recherche de la protéine p16INK4a était positive dans 77 (55,8%) biopsies initiales. Une progression des lésions vers des CIN2 et 3 était retrouvée chez 14 des 77 cas marqués positivement à la p16INK4a, et aucune progression n'était retrouvée chez les 68 cas où la recherche de la p16INK4a était négative. Cette différence était statistiquement significative ($p < 0,001$). Cela plaidait en faveur d'un risque plus important de progression vers une dysplasie de haut grade ou des lésions invasives en cas de surexpression de la protéine p16INK4a. Néanmoins, cela ne représentait que 18,2 % des CIN1 marquées positivement à la p16INK4a. Cela suggérait que l'inactivation de la pRb par E7 était l'événement précoce initiateur de l'instabilité chromosomique, mais l'accumulation d'autres mutations semblait nécessaire à la progression lésionnelle, et plaidait en faveur de l'association de la p16INK4a à d'autres marqueurs moléculaires tels que L1. Les auteurs ont également recherché d'autres facteurs susceptibles d'influencer cette progression, et ont mis en évidence 3 éléments principaux: le marquage p16INK4a, mais également un âge supérieur à 30 ans (4,5 vs 15,3 ; $p = 0,047$) et un FCU initial de type HSIL (9,3 vs 100 % ; <

0,03). Les résultats obtenus suggéraient également que les lésions de CIN1 sur pièces de biopsies cervicales marquées négativement à la protéine p16INK4a progressaient rarement vers des lésions de haut grade, et donc qu'elles devraient bénéficier d'une surveillance moins rapprochée.

Ainsi parmi les lésions de CIN2, différents auteurs ont rapporté des taux de régression à la normale de 53% à 57%, et de progression vers une CIN 3 ou plus, de 21% à 32%. Même si le taux de progression de CIN 2 était plus élevé que le taux de régression, traiter tous les cas de CIN 2 pouvait représenter un traitement excessif. Sur ces éléments, ils ont évalué la prédiction de la progression des CIN 2 par la surexpression de la protéine p16INK4a et la détection d'HPV à haut risque oncogène. Les auteurs ont évalué si les cas à haut risque de progression, avaient pu être détectés parmi les lésions de CIN 2, ce qui permettrait un traitement approprié seulement pour les patientes qui seraient effectivement bénéficiaires d'un traitement.

Omori et son équipe, en 2007 [131], se sont intéressés à la valeur pronostique de la p16INK4a en immunohistochimie pour la progression des néoplasies intra-épithéliales cervicales de haut grade à partir de 52 cas de CIN2 diagnostiquées histologiquement sur biopsies cervicales. Après 2 ans de suivi, parmi ces cas, la dysplasie cervicale avait régressé dans 28 cas (54%), 13 cas (25%) avaient progressé vers une CIN3, et dans 11 cas (21%) on notait une persistance de la CIN2. Ils retrouvèrent un lien entre, l'expression de la protéine p16INK4a et d'une part la présence d'un HPV à haut risque, et d'autre part le grade de la néoplasie intra-épithéliale cervicale. Les cas de CIN 1 et CIN 2 ont été suivis par frottis et colposcopie tous les 3 à 4 mois, et des biopsies ont été réalisées lorsqu'une progression était suspectée sur la cytologique ou la colposcopie. Lorsque les cellules dysplasiques n'étaient pas retrouvées dans au moins 2 examens consécutifs, le diagnostic de la régression était posé. Ils retrouvèrent parmi les cas de CIN2 présentant une immunoexpression de la protéine p16INK4a modérée à forte et un signal nucléaire ponctué à un HPV à haut risque, un taux élevé de progression. Tous les cas de CIN2 montrant une immunoexpression forte p16INK4a lors du diagnostic initial avaient progressé vers une CIN3, et 91% des cas de CIN2 qui montraient une immunoexpression modérée à forte de la p16INK4a et un signal ponctué à HPV ont progressé en CIN3. En revanche, les lésions de CIN2 qui montraient une expression de ces biomarqueurs égale à celle de CIN1, ont spontanément régressées à la normale. Ces résultats suggéraient donc devant la diversité des lésions histologiques diagnostiquées comme CIN2 que l'identification simultanée d'une surexpression de la p16INK4a et d'un signal ponctué

d'HPV à risque élevé à la phase initiale du diagnostic pourrait permettre de prédire la progression des CIN 2. Ces auteurs ont également démontré une meilleure concordance diagnostique inter-observateurs pour l'immunocoloration à la p16INK4a que celle retrouvée pour la coloration à H&E dans les diagnostics des CIN 1 et CIN 2.

Comme nous l'avons dit précédemment, la régression spontanée des néoplasies intra-épithéliales cervicales de grade 2 (CIN2) des lésions était bien reconnue, mais les facteurs prédictifs étaient mal compris. Un essai clinique a été mis en place au Brésil, qui s'était également penché sur la question [132]. Les auteurs ont réalisé, chez 90 femmes avec diagnostic de CIN2 et infection à un papillomavirus humain de haut risque, une étude où les patientes étaient randomisées en deux groupes de tailles égales: 45 femmes avec exérèse lésionnelle et 45 femmes soumises à un suivi prospectif à des intervalles de 3 mois, pour une durée d'au moins 1 an (moyenne 6,8 mois). L'expression de la protéine p16INK4a a été évaluée sur pièces de conisation par coloration immunohistochimique. Parmi les 45 femmes du groupe suivi, 42% ont connu une régression spontanée totale de la CIN2, 20% avaient une régression partielle en CIN1 ou ASCUS (cellules squameuses atypiques signifiante indéterminée), 11% une persistance, et 22% avaient progressé vers une CIN3. L'expression de la protéine p16INK4a a été détectée chez 68,9% des patientes. Malgré ces résultats favorables, aucune différence significative n'a été obtenue en matière de survie après analyse univariée, entre un marquage p16INK4a négatif et positif des lésions CIN2 (RR ajusté 1,1; 95% IC [0,6 à 2,0]), probablement du fait des faibles reculs et effectifs de l'étude. Mais elle suggérait tout de même, comme d'autres auteurs, la possibilité d'une surveillance dans la gestion des CIN2 chez les femmes jeunes, du fait du taux élevé de régression spontanée des CIN2 chez ces patientes.

Castle et son équipe [133] se sont eux intéressés aux facteurs prédictifs des lésions précancéreuses chez 545 femmes suivies pour biopsies CIN2 découvertes lors du triage de frottis LSIL et ASCUS. Cette étude faisait partie des larges investigations ALTS précédemment citée, et portait sur 5060 femmes avec frottis ASC-US et LSIL et 3 possibilités de prise en charge (colposcopie, typage HPV, suivi par frottis). Pour les trois cas, une surveillance par cytologie était réalisée tous les 6 mois pendant 2 ans, et une colposcopie était effectuée si le résultat cytologique correspondait à une HSIL, ainsi qu'une colposcopie en fin de procédure. Les biopsies ou conisations ont été examinées par des pathologistes

locaux et contrôlées par un des quatre pathologistes experts. Sur les 5060 femmes inscrites dans l'ALTS, 545 femmes (10,8%) avaient un prélèvement biopsique sous colposcopie avec une CIN2 diagnostiquée par le pathologiste du centre clinique lors de l'inscription, et pour 524 femmes, ce fut un diagnostic de biopsie posé pendant les 2 ans de suivi par le centre clinique. Chez ces femmes, il y avait une probabilité croissante que la conisation retrouve une CIN3 avec le nombre croissant de facteurs de risques cliniques de lésions précancéreuses du col de l'utérus; à savoir, un HSIL à la cytologie, une colposcopie de haut grade, ainsi que la détection de l'HPV de type 16 (OR 4,8 ; $p < 0,0005$). Mais cette relation n'était pas suffisamment robuste pour être cliniquement utile et réduire le sur-traitement de femmes infectées par le HPV.

Une étude récente [134], s'est elle plus particulièrement intéressée à la valeur prédictive du marquage p16INK4a sur biopsies cervicales pour la progression des dysplasies cervicales de type CIN1 à partir d'une étude rétrospective comprenant un groupe de 100 cas CIN1, un groupe de 50 cas de CIN2 et 3, et un groupe de 50 cas de tissus normaux ou de lésions bénignes du col utérin. La période de suivi de ces patientes était au minimum de 5 ans. Une réaction positive pour la protéine p16INK4a a été détectée dans tous les cas du groupe de haut grade et dans seulement 3 cas dans le groupe bénin. Les auteurs retrouvaient donc une valeur prédictive négative de l'immunomarquage p16INK4a pour prédire l'issue des cas de CIN 1 élevées de 96%, ce qui suggérait fortement le rôle important de la protéine 16INK4a dans l'évaluation de ce type de lésion.

6. UTILISATION DE LA P16INK4a EN IMMUNOCYTOCHIMIE DANS LE TRI DES FROTTIS ASC-US POUR LE DIAGNOSTIC DE CIN2

Selon l'ANAES trois stratégies ont été proposées après diagnostic d'un ASC-US au frottis: la répétition du frottis, la biopsie sous colposcopie et la recherche de l'ADN d'un HPV oncogène [70]. Cette dernière approche a une meilleure sensibilité que la répétition du frottis, mais qui n'est par contre pas indiquée pour explorer les LSIL, la plupart étant associées avec une infection à HPV. De nouveaux marqueurs avec une sensibilité comparable au test HPV mais une meilleure spécificité permettraient une prise en charge plus efficace des frottis ASC-US ou LSIL.

Seul un petit nombre de patientes avec diagnostic d'atypies malpighiennes de signification indéterminée (ASC-US) ou de lésions intra-épithéliales de bas grade (LSILs) présente un CIN

de haut grade (CIN2 et CIN3) sur la biopsie sous colposcopie. La détection de ces quelques CIN de haut grade nécessite l'exploration d'un nombre important de frottis avec des anomalies mineures, dont le coût est élevé et qui induit de nombreux examens colposcopiques inutiles. La détection de la protéine p16INK4a par immunocytochimie sur des frottis prélevés en milieu liquide et diagnostiqués ASC-US ou LSIL permettrait d'obtenir, une sensibilité comparable mais une meilleure spécificité que le test HPV, pour prédire une CIN2.

Dans une étude réalisée par Négri et son équipe [135], une évaluation de la faisabilité et de la valeur diagnostique d'un test de Papanicolaou, modifiée par contre-coloration à l'immunomarquage de la protéine p16INK4a a été réalisée dans 81 échantillons de liquides cervico-vaginaux. Parmi ces échantillons, on retrouvait après colorations de Papanicolaou, 23 frottis normaux, 6 LSIL, 20 HSIL, 16 ASC-US et 16 ASC-H. Les résultats obtenus ont été comparés aux résultats du suivi cytologique et histologique. Les échantillons provenant de 29 cas (10 des LSIL, 10 des ASC-H et 9 de HSIL) ont été immunocolorés à la p16INK4a et de façon conventionnelle. L'intensité de l'immunomarquage, en cas de lésion intra-épithéliale squameuse, a été évaluée en utilisant un système de notation de 0 à 3. La concordance inter-observateurs a été calculée par analyse statistique kappa. Ainsi, l'immunomarquage p16INK4a a été détectée dans 3 des 23 cas de frottis normaux, 5 des 16 cas d'ASC-US, 13 des 16 cas d'ASC-H, 4 des 6 cas de LSIL et tous les cas de HSIL. Tous les cas de néoplasies intra-épithéliales cervicales de haut grade (CIN2 ou CIN3) diagnostiquées lors du suivi exprimaient la protéine p16INK4a et aucun des cas de p16INK4a négative n'a montré une lésion de haut grade lors du suivi. On n'observait pas de différences évidentes sur le type ou l'intensité de l'expression de p16INK4a entre les échantillons de l'étude et ceux des groupes contrôles. La concordance inter-observateurs était significativement meilleure dans le groupe avec immunomarquage par rapport au frottis conventionnels (Coefficient kappa à 0,773 vs 0,549; $p < 0,05$) et restait meilleure, quoique statistiquement non significative, lors de l'association sur FCU de la coloration conventionnelle et de l'immunomarquage p16INK4a (combinés kappa à 0,773 vs 0,642; $p > 0,05$). Cette étude plaidait donc en faveur de l'utilisation en immunocytochimie du marquage p16INK4a par contre-coloration de Papanicolaou modifiée, afin de bénéficier de son potentiel de celle-ci, sans avoir besoin d'un nouveau prélèvement, et tout en conservant les caractéristiques morphologiques typiques des frottis.

Denton et son équipe, en 2010 [136], ce sont plus particulièrement intéressés aux performances de la p16INK4a en immunocytochimie dans les frottis ASC-US et LSIL. Il

s'agissait d'une étude rétrospective, portant sur une série de 810 cas de frottis en phase liquide ASC-US et LSIL ayant bénéficié d'une biopsie cervicale sous colposcopie. Ils ont ainsi évalué les performances du marquage de la protéine p16INK4a en immunocytochimie dans le tri des frottis ASC-US et LSIL pour le diagnostic de CIN2. Parmi les biopsies réalisées, on retrouvait 94 cas de CIN2 et 128 cas de CIN3. La détection du papillomavirus humain (HPV) a été réalisée sur les mêmes échantillons cytologiques sur phase liquide résiduelle. Les deux résultats ont été corrélés avec les données des examens histologiques. A 6 mois, la sensibilité pour le diagnostic de lésions intra-épithéliales de haut grade confirmé à la biopsie était de 92,6% (ASC-US) et 92,2% (LSIL) en cas d'association cytologie conventionnelle et de marquage p16INK4a, et de 90,1% (ASC-US) et 95,7% (LSIL) pour l'association frottis et typage HPV. Cette sensibilité était un peu inférieure en cas de frottis seul, avec des taux de 76,4% en cas de frottis ASCUS, et de 80,1% en cas de frottis LSIL. La spécificité de la cytologie associée à la p16INK4a était significativement plus élevée que l'association cytologie conventionnelle et test HPV (71,1% vs 37,8% ; $p < 0.001$) pour les ASC-US et (53,3 % vs 18,5%; $p < 0.001$) pour les LSIL. Cette étude confirmait le potentiel diagnostique d'un marquage positif de la protéine p16INK4a en immunocytochimie dans le tri des frottis de bas grade ASCUS ou LSIL. La spécificité était encore meilleure si la détection de la protéine p16INK4a était associée à une analyse qualitative des cellules marquées, permettant de définir un score morphologique, meilleur par rapport au test HPV. Ceci permettrait de réduire le nombre de suivis nécessaires à long terme chez les patientes présentant des frottis ASC-US et LSIL, le coût de leur prise en charge diagnostique ainsi que l'anxiété engendrée chez ces patientes.

Comme nous l'avons développé au paravent, d'une part le dépistage cytologique du cancer du col est entravé par sa sensibilité imparfaite et sa faible reproductibilité inter-observateurs, et d'autre part, le test HPV manque de spécificité en tant que méthode de dépistage primaire. De ce fait, certains auteurs tels que Sahebali et son équipe [137], plaident en faveur d'une optimisation du dépistage du cancer du col par l'utilisation de la détection de la protéine p16INK4a en immunocytochimie, reflétant les altérations causées par le HPV dans les cellules hôtes du col utérin. Il s'agissait là d'une étude prospective, transversale, portant sur 500 échantillons cytologiques avec différentes catégories d'anomalies (ASC-US, LSIL et HSIL) dans le cadre du dépistage opportuniste en Flandre (Belgique), qui s'intéressait au potentiel de la protéine p16INK4a et du MIB-1 (marqueur de prolifération Ki-67) marqueurs moléculaires d'appoints, dans le dépistage des lésions précancéreuses du col utérin. Les

échantillons ont été interprétés, selon le système Bethesda 2001, en immunocytochimie pour la protéine p16INK4a et le MIB-1, et ont eu un typage HPV par PCR. Les résultats des deux marqueurs en immunocytochimie ont été corrélés aux résultats du dépistage cytologique conventionnel et au test HPV par PCR. Il y avait un plus grand nombre moyen de cellules immunoréactives à la protéine p16INK4a et au MIB-1 dans les frottis HSIL (4,06 vs 1,93 et 11,13 vs 2,83 / 1000 cellules cervicales, respectivement) par rapport à d'autres catégories cytologiques. Les deux marqueurs ont montré une grande disparité des résultats, et ceci pour toutes les catégories. Pour le MIB-1, on retrouvait un taux significativement plus élevé pour les HSIL que les LSIL et ASC ($p < 0.001$) ainsi que pour les échantillons négatifs ($p < 0.01$). Pour la p16INK4a, on retrouvait un taux significativement plus élevé pour les HSIL que les LSIL ($p < 0.001$), ASC ($p < 0.01$) et les échantillons négatifs ($p < 0.001$). Pour le MIB-1, il n'y avait pas de différence significative entre les différentes catégories de résultats d'HPV. Pour la p16INK4a, le groupe HPV-HR avait une moyenne significativement plus élevée que les échantillons négatifs ($p < 0,05$). Cette étude confirmait donc la forte corrélation entre une coloration fortement positive pour la p16INK4a et le MIB-1 et le diagnostic de lésions cervicales de haut grade. Ces marqueurs pouvaient être utilisés comme additifs pour augmenter la sensibilité du dépistage cytologique, ainsi que la spécificité du test HPV. Toutefois, des normes méthodologiques claires étaient nécessaires pour optimiser la performance de l'immunocytochimie en pratique clinique.

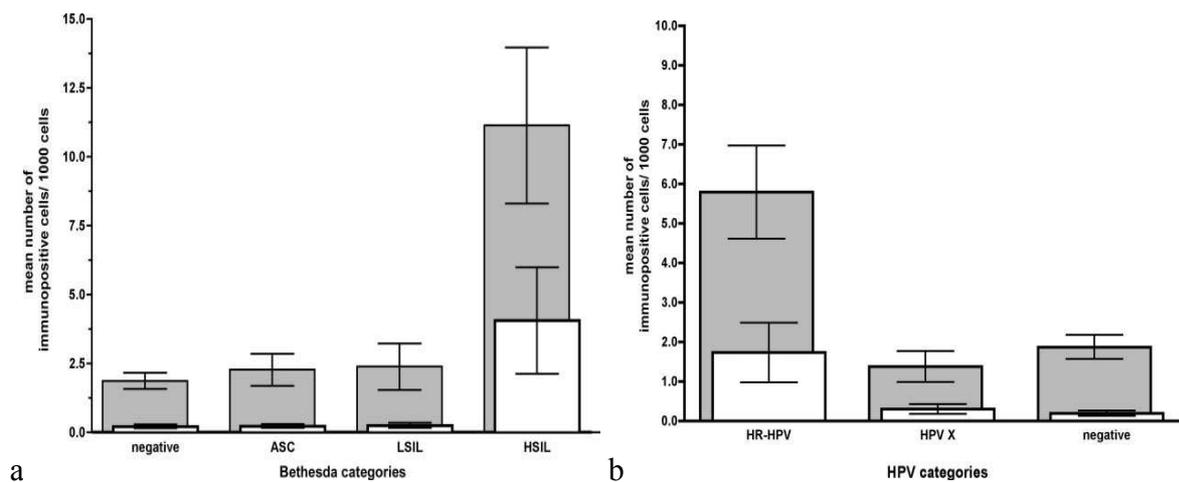


Figure 23 – Moyenne du nombre d'immunopositivité au MIB-1 et à la p16INK4a parmi les échantillons cytologiques (a) et les typages HPV (b) [137].

C'était une des rares études à avoir véritablement tentée d'évaluer la valeur de la protéine p16INK4a dans le dépistage primaire du cancer du col de l'utérus. Mais même dans cette étude, malgré que les frottis aient été prélevés au hasard chez des femmes ayant subi un dépistage de routine du cancer du col, seules celles qui ont été testées pour le HPV ont été incluses, de sorte que même dans cette étude, il y avait une sélection et un enrichissement de la maladie.

En sachant que le test HPV était plus sensible mais moins spécifique que la cytologie conventionnelle, de la même façon, Carozzi et son équipe [138], avaient étudié le triage des tests HPV par la surexpression de la protéine p16INK4a pour voir si cela pouvait augmenter la spécificité du dépistage, tout en conservant sa sensibilité pour la détection des néoplasies intra-épithéliales cervicales de haut grade. Il s'agissait d'une étude multicentrique randomisée contrôlée, incluant des femmes HPV positives (par Hybrid Capture 2), dont une partie était orienté vers une colposcopie. Dans sept des neuf centres d'études, les préparations cytologiques (cytospin) de ces femmes ont été testées pour la surexpression par immunomarquage de la protéine p16INK4a. Pour ces femmes, ont été calculées la sensibilité et la spécificité pour la détection des CIN de grade 2 ou plus, comparées aux résultats histologiques. Les auteurs ont également estimé la sensibilité relative, qui aurait été obtenue par le test HPV associé au triage par p16-INK4a comparativement à la cytologie conventionnelle. L'étude portait sur 24 661 femmes assignées aléatoirement aux groupes expérimentaux. Parmi les 1137 patientes ayant eu une colposcopie, 50 étaient atteintes de CIN2 et CIN3, et 42 d'un cancer, chez qui une évaluation de l'immunomarquage de la p16INK4Aa était réalisée. Pour le critère de CIN2 et plus, la sensibilité et la spécificité de dépistage de la p16INK4a parmi les femmes HPV positives, tout âge confondu, étaient respectivement de 88% et 61%. Dans le groupe de patientes d'âge compris entre 35 et 60 ans, la sensibilité relative du test HPV et du triage p16-INK4a par rapport à la cytologie conventionnelle était de 1,53 (95% IC [1,15-2,02]), et l'orientation relative vers la colposcopie était de 1,08 (0,96 -1,21). Dans le groupe d'âge compris entre 25 et 34 ans, le rapport de sensibilité était de 3,01 (1,82-5,17) avec une orientation relative vers la colposcopie de 1,15 (95% IC [0,96-1,37]). Ces résultats permettaient donc de conclure que l'association du test HPV au triage cytologique par la protéine p16-INK4a produisait une augmentation significative de la sensibilité par rapport à la cytologie conventionnelle, sans augmentation substantielle du renvoi en colposcopie.

Ces données ont été confirmées plus récemment par Min-Zhu Huang en 2010 [139], dans une étude portant sur 262 cas de lésions cervicales. Ils retrouvaient une corrélation positive entre le taux d'HPV-HR positif et la gravité des lésions du col utérin ($r_s = 0,565$; $p < 0,05$), des taux de positivité d'expression de la p16INK4a augmentant avec le degré d'anomalies histopathologiques ($\chi^2 = 114,66$; $p < 0,05$) et une corrélation positive entre l'expression de la p16INK4a et la sévérité des lésions du col utérin ($r_s = 0,642$; $p < 0,05$). L'effet de la coexistence d'une recherche d'HPV-HR positive avec un marquage p16INK4a positif était significativement supérieur à la somme des deux résultats seuls (odds ratio: 72,56 [18,69 2,38]). Cela signifiait qu'il y avait une interaction positive entre ces deux examens. La spécificité de cette association était également statistiquement plus élevée ($p < 0,05$). Ces données démontrent que la combinaison de la recherche d'HPV-HR et du marquage p16INK4a permettait de diagnostiquer les patientes avec une CIN1 de façon plus précise que l'HPV-HR ou la p16INK4a seuls, et de prévoir plus précisément la gravité des lésions cervicales. Avec l'aggravation des lésions de dysplasie cervicale vers un cancer du col, la séquence de l'état d'expression des HPV-HR et de la p16INK4a pouvait être organisée dans l'ordre suivant: HPV (-) / p16 (-) (OR = 1), HPV (+) / p16 (-) (OR = 2,38), HPV (-) / p16 (+) (OR = 18,69), HPV (+) / P16 (+) (OR = 72,56). Il semblait probable que les cas d'associations HPV (+) / p16 (+) ou HPV (-) / P16 (+) correspondaient à un groupe à risque, nécessitant une attention et une gestion de suivi précoces, alors que les cas d'associations HPV (-) / p16 (-) ou HPV (+) / p16 (-) pouvaient avoir un suivi approprié sur une période prolongée.

Tsoumpou et son équipe, ont effectué une revue de la littérature et une méta-analyse [140], pour évaluer la valeur de la p16INK4a comme biomarqueur complémentaire au cours des examens cytologiques des frottis cervicaux, et histologiques des biopsies cervicales, permettant l'identification de la transformation du col utérin liée à l'infection par le HPV, ceci parmi des femmes aux résultats cytologiques ambigus qui exigeaient un renvoi en colposcopie et éventuellement un traitement. Ils ont effectué un examen systématique de toutes les études ayant évalué l'utilisation de la protéine p16INK4a dans les prélèvements cytologiques ou histologiques de col de l'utérus. Soixante et une études ont été incluses. Vingt-sept ont évalué le marquage de la protéine p16INK4a dans des échantillons cytologiques dont 6 d'entre elles également dans des échantillons histologiques, tandis que 34 études ont évalué uniquement la coloration de la p16INK4a sur échantillons histologiques. Les résultats retrouvaient une proportion de frottis cervicaux surexprimant la protéine p16INK4a, augmentant avec la gravité de l'anomalie cytologique. Parmi les frottis normaux, seulement 12% (95% IC [7-17])

étaient positifs pour le biomarqueur, comparativement à 45% des ASCUS et LSIL (95% CI [35-54] et [37-57] respectivement) et 89% des frottis HSIL (95% CI [84-95]). De même, en histologie, seulement 2% des biopsies normales (95% CI: 0.4 à 30%) et 38% des CIN1 (95% CI: 23-53%) ont montré une coloration diffuse pour la p16INK4a par rapport à 68% des CIN2 (95% CI: 44-92%) et 82% de CIN3 (95% CI: 72-92%).

Cette analyse pointait surtout la faible reproductibilité des études, en raison d'une insuffisante standardisation de l'interprétation de l'immunomarquage. Les résultats étaient très hétérogènes dans tous les types de prélèvements et de catégories de néoplasies épithéliales en particulier dans les catégories intermédiaires où le pourcentage de frottis positifs pour la protéine p16INK4a variait de 10% à 100% pour les ASCUS, et de 10% à 86% pour les LSIL. Par conséquent, un consensus devait être atteint en ce qui concernait l'évaluation de la coloration de la p16INK4a, surtout en immunocytochimie.

Pour limiter cette grande variabilité, dans une étude récente, une notation nucléaire (NS) a été introduite pour le marquage p16INK4a dans les échantillons de liquide cytologique en cas de frottis ASC-US et LSIL [141]. En évaluant le marquage nucléaire, la taille du noyau et rapport nucléo-cytoplasmique, texture de la chromatine, forme du noyau et structure membranaire, anisonucléose, ainsi que d'autres caractéristiques morphologiques nucléaires, une classification de un à quatre niveaux d'anomalies a été proposée pour décrire la positivité des cellules squameuses à la protéine p16INK4a, et pour différencier les cellules basales anormales des cellules métaplasiques ou atrophiques. Après avoir effectué une évaluation formelle (Receiver Operator Curve) d'analyse de la positivité en cytologie, les auteurs ont conclu qu'un score nucléaire > 2 permettait d'obtenir les meilleures sensibilités et spécificités entre les différents seuils de score p16INK4a pour détecter les CIN de haut grade. Les résultats ont été présentés d'abord sur une étude pilote de 210 frottis en milieu liquide, dont 108 sans cellules suspectes de malignité, 52 avec une LSIL et 50 avec un diagnostic de HSIL. Puis une deuxième étude comprenait 137 frottis avec diagnostic d'ASC-US et 88 frottis avec diagnostic de LSIL. L'identification du marquage par la protéine p16INK4a et le score nucléaire ont été analysés par 2 observateurs de manière indépendante, et les résultats discordants par un troisième évaluateur. Pour la totalité des frottis, la sensibilité et la spécificité pour le diagnostic d'une CIN de haut grade ont été respectivement de 96 % et 83 %. La sensibilité et la spécificité sur les frottis ASC-US ont été de 95 % et 84 %, et sur les frottis LSIL de 100 % et 81 % respectivement. La sensibilité et la spécificité de la détection qualitative de la protéine p16INK4a ont été très proches pour les deux observateurs, sans

différence significative. Ils ont eu une bonne concordance sur le score proposé pour les cellules malpighiennes basales marquées par la p16INK4a (kappa de 0,841).

Ces résultats nous renforçaient dans l'idée que l'interprétation des frottis serait facilitée si les cellules anormales pouvaient être identifiées par un biomarqueur sensible, tel que la p16INK4a, mais avec l'intérêt d'une association aux critères morphologiques. Le lecteur pourrait alors se focaliser sur l'analyse des cellules marquées, améliorant ainsi son travail d'interprétation. Pour atteindre cet objectif, ce marqueur devrait être exprimé dans suffisamment de cellules anormales présentes sur le frottis pour permettre une identification au moins comparable à celle d'un frottis coloré par la méthode de Papanicolaou. Ce marquage devrait aussi permettre l'interprétation morphologique des cellules marquées grâce à un couplage avec la coloration par l'hématoxyline pour l'analyse des noyaux.

Ainsi la standardisation de la préparation des échantillons et de leur interprétation était d'une importance primordiale pour l'évaluation clinique des biomarqueurs. Par conséquent, il était essentiel que toutes les futures études sur cytologie ou histologie puissent indiquer clairement comment les dispositifs ont été évalués et les caractéristiques de tout type d'interprétation. Les méthodes utilisant une méthode morphologique (cotation nucléaire ou comptage de cellules atypiques) d'évaluation de façon générale, avaient une plus grande spécificité. Cependant, à la fois les approches quantitatives et morphologiques devaient être comparées à l'aide de stratégies d'évaluation compréhensibles, qui permettaient une meilleure mise en commun des données. Après un consensus sur l'interprétation de coloration, le biomarqueur devrait être évalué dans divers paramètres cliniques, sur des problèmes spécifiques, afin de répondre à des questions cliniques. Une étude utile nécessiterait un bilan rigoureux avec colposcopie / biopsie (avec biopsies multiples) et au moins un suivi de deux ans pour détecter la maladie manquée en colposcopie initiale / biopsie.

F. PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES DYSPLASIES DU COL UTERIN

Comme nous l'avons développé précédemment, les lésions précancéreuses évoluent, sur une longue période. Par conséquent, le traitement d'une CIN n'est pas une urgence. Il ne doit pas non plus être disproportionné, s'agissant de lésions qui, pour certaines d'entre elles ont un taux très important de régression spontanée.

La prise en charge des lésions de néoplasies intra-épithéliales ont été précisées par les recommandations de l'ANAES 2002.

Pour ce qui est des anomalies cytologiques, les possibilités de prise en charge sont développées ci-dessous. (Annexe 3).

Les *frottis ASC-H* correspondent dans 40 % des cas à des lésions de haut grade (CIN2, CIN3) et exceptionnellement à un cancer invasif ce qui justifie la réalisation d'une colposcopie avec contrôle histologique d'emblée.

Pour les *frottis ASC-US*, elles sous estiment la présence d'une lésion de haut grade dans seulement 5 à 10 % des cas, dans ce cas trois options sont possibles, soit la réalisation d'une colposcopie d'emblée, soit un contrôle par frottis 6 mois plus tard, soit une recherche d'HPV potentiellement oncogènes. Leurs résultats dictent ainsi la suite de la prise en charge.

La gestion des *frottis LSIL*, offre quant à elle deux possibilités, la réalisation d'une colposcopie d'emblée, ou un contrôle par frottis 4 à 6 mois plus tard. La recherche d'HPV dans ce cas n'est pas recommandée.

En ce qui concerne les *frottis HSIL*, une colposcopie est d'emblée préconisée devant le fort taux de lésions de haut grade, afin de repérer ces anomalies avec des prélèvements histologiques de bonne qualité. Un deuxième frottis est inutile et dangereux. Si l'intégralité des lésions cervicales, notamment vers le canal endocervical, n'est pas observée avec un examen colposcopique non satisfaisant, une conisation diagnostique s'impose.

Ainsi après confirmation histologique des lésions de néoplasies intra-épithéliales, le traitement est adapté au degré de sévérité lésionnelle.

Pour le traitement des *lésions de bas grade (CINI)*, deux options sont envisageables:

- une surveillance sans traitement si la lésion est bien vue et que la garantie d'un suivi régulier sur deux ans est obtenue, avec traitement destructeur en cas de persistance.
- réalisation d'un traitement destructeur de la lésion, la vaporisation de CO2 au laser étant la méthode la plus souvent employée, elle est efficace dans 95% des cas.

Alors que pour le traitement des *lésions de haut grade (CIN 2/3)* à ce jour aucune hésitation n'est permise, ce sont selon l'ANANES directement des lésions pré-invasives que l'on doit absolument détruire. Pour ce qui est du mode de traitement, un recours à la vaporisation de CO2 au laser est possible si la surface lésionnelle n'excède pas 2 cm², si la lésion est entièrement exocervicale et si la jonction squamo-cylindrique est bien vue en colposcopie.

Toutefois, l'exérèse totale de la lésion par conisation est le plus souvent préférée, on enlève un petit cône de col, d'environ 1 cm sur 2 cm, autour de l'orifice externe. La résection peut se faire au bistouri froid, au laser, mais la méthode de choix aujourd'hui est l'électrorésection à l'anse diathermique. Là encore le pronostic est excellent : 95 à 98% des guérisons sont définitives.

G. PRONOSTIQUE THERAPEUTIQUE DES DYSPLASIES DU COL UTERIN

Le risque de récurrence après traitement de CIN est majeur dans les deux premières années, mais il persiste un risque de cancer du col supérieur à une population non traitée au-delà de 20 ans après le traitement. Il existe par ailleurs peu de facteur unanimement reconnus intervenant dans ce risque de récurrence. La difficulté réside dans la différenciation des persurances d'anomalies cervicales des véritables récurrences de dysplasies cervicales.

Dans différentes publications, les résultats des traitements par exérèses sont à peu près les mêmes en termes d'efficacité quelque soit la technique utilisée, environ 90 à 95% de taux de succès et 5 à 10 % de récurrence [142-143]. Les récurrences et persurances n'étaient pas clairement différenciées dans la littérature. Classiquement le terme de récurrence était réservé à une lésion qui apparaissait plus d'un an après le traitement et sous couvert de deux contrôles cytologiques normaux (6 mois et 1 an). Toute fois dans l'analyse des résultats les deux entités étaient souvent regroupées.

Ainsi Soutter et son équipe a retrouvé dans une méta-analyse regroupant 26 cohortes, une incidence annuelle de récurrence de dysplasie cervicale de 56/100000, soit trois fois le risque attendu sur une population témoin [144]. Ce risque était majeur pendant les dix premières années et persistait à un niveau moindre jusqu'à 20 ans après le traitement initial de CIN. Pour Kalliala sur une cohorte de patientes finlandaise [145], le risque de cancer après traitement d'une CIN était majoré de 2,8 fois (1,7-4,2) lors de la première décennie et de 3,1 fois (1,5-5,7) pour la deuxième décennie. Celui-ci notait par ailleurs des taux de récurrence de CIN3 après conisation variant de 5 à 30% suivant la durée de suivi et qui ne dépendait pas de la technique utilisée. L'hystérectomie ne protégeait pas plus du risque de récurrence après traitement d'une CIN de haut grade par rapport aux traitements conservateurs. Récemment, Melnikow a publié

une étude rétrospective portant sur 37142 patientes traitées de différentes façons pour CIN1, CIN2 ou CIN3 avec leur suivi. Il a comparé le nombre de CIN2, CIN3 et cancers apparus comparativement à une population de 71213 patientes au frottis initial normal et sans antécédents de CIN. Il apparaissait que les patientes traitées par cryothérapie à fortiori dans le cadre de lésions de haut grade présentaient de façon significative plus de récurrence de CIN2, CIN3 et plus de cancer. Comparé aux traitements d'exérèse, le risque relatif était de 2,98 (2,09-4,26) [146].

Ces données justifiaient les recommandations actuelles du suivi post-thérapeutiques, de toutes les patientes traitées pour dysplasies cervicales, suivi cyto-colposcopique à 3 mois et 9 mois, puis par cytologie annuelle pendant 20 ans. L'identification de facteurs de risques de récurrence permettrait de moduler les modalités de cette surveillance, ainsi que le risque d'évolution vers un cancer.

L'exérèse non in sano en particulier sur le versant endocervical était clairement associée à un risque plus important de persistance et de récurrence, ainsi que la présence d'un adénocarcinome in situ sur la pièce de conisation. En cas de CIN3, la marge de 3 mm était le plus souvent reconnue comme satisfaisante, en cas de carcinome micro-invasif une sécurité d'au moins 7 mm était nécessaire. Enfin pour les cas d'adénocarcinome in situ une marge de 1 cm semblait indispensable. En cas d'exérèse in sano le risque de récurrence était évalué entre 2 et 8%. En cas d'exérèse non in sano le risque de récurrence était évalué entre 30 et 40% et plus fréquentes en cas de marges endocervicales non saines [145-146].

Le grade initial de la lésion cervicale ne semblait pas augmenter le risque de récurrence. Par ailleurs, l'étendue et l'âge de la patiente semblaient intervenir mais à des degrés variables [145]. Le test HPV à 6 mois et surtout à 12 mois était le test le plus discriminant à moyen terme même s'il persistait des doutes quant à sa valeur prédictive négative au-delà de 2 ans. L'étude de la littérature était plutôt en faveur un traitement par exérèse pour ne pas sous-traiter une lésion micro-invasive non reconnue à la biopsie.

Dans une étude publiée en 2010, Bologlu et son équipe [147] ont évalué le risque de persistance et de récurrence des dysplasies cervicales après traitement par conisation à l'anse diathermique chez des patientes présentant une CIN 2 ou 3. Après ce traitement par excision, un suivi étroit était réalisé de façon pour la détection précoce d'une maladie résiduelle afin de la différencier d'une récurrence. La valeur diagnostique des frottis et tests HPV après

traitement par conisation chez des patientes porteuses de lésions de néoplasies intra-épithéliales de haut grade à la conisation, pour le diagnostic de maladie résiduelle et récurrente était évaluée. 42 patientes ont été incluses dans l'étude pour lesquels des anomalies des cellules épithéliales avaient été détectées au frottis de dépistage, suivi d'un test HPV, d'une colposcopie, de biopsie cervicale et curetage endocervical, et enfin de conisation. Les patientes ont été suivies avec recherche de l'ADN à HPV et frottis de dépistage à trois mois d'intervalle. 85,7% de ces patientes étaient positives pour la recherche d'ADN à HPV à haut risque avant le traitement. L'évaluation histopathologique des échantillons de conisation avaient révélé la présence de CIN I et CIN 4 II / III chez 90,48% des patientes. La berge chirurgicale était non saine chez 11,9% des patientes. Aucun signe de néoplasie cervicale invasive n'a été détecté. La persistance d'HPV à risque élevé a été observée chez 30,6% des patientes avec recherche initiale positive, avec un HSIL détecté chez 11,11% d'entre elles lors du frottis du troisième mois. Des berges chirurgicales non saines étaient positivement corrélées à la fois à la positivité de la recherche d'ADN détectés lors des examens de suivi et avec la présence de maladie résiduelle lors des frottis de suivi. Ainsi les patients présentant une CIN 2 ou 3 à la conisation en dépit de la récurrence élevée et des taux de maladie résiduelle, elles nécessitaient une surveillance étroite, un suivi par frottis et test HPV était d'une grande importance dans la détection de la maladie résiduelle ou d'une récurrente.

III. MATERIEL ET METHODE

La prise en charge des dysplasies cervicales pose aujourd'hui de plus en plus de problèmes de prises en charge et surtout de décisions thérapeutiques, face à un rajeunissement des patientes porteuses d'anomalies cervicales et un âge de gestation de plus en plus tardive. Dans une démarche d'amélioration des pratiques cliniques à la Maternité Régionale de Nancy, nous avons réalisé une étude mono-centrique, rétrospective sur analyse de dossiers gynécologiques, portant sur des patientes traitées par conisation dans le cadre d'une dysplasie cervicale, entre le 1^{er} Janvier 2007 et le 31 Décembre 2009, à la Maternité Régionale Universitaire de Nancy.

A. OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. LES OBJECTIFS PRINCIPAUX DE L'ETUDE

Notre étude avait tout d'abord comme objectif d'étudier les caractéristiques des dysplasies cervicales chez les patientes traitées par conisation à la Maternité Régionale de Nancy, avec évaluation de la concordance diagnostique entre la cytologie – la colposcopie – l'histologie pré-conisation avec comme examen de référence le résultat anatomopathologique sur pièce de conisation.

Notre étude avait également pour objectif d'évaluer dans le cadre des dysplasies cervicales sévères, la valeur diagnostique de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a sur biopsie cervicale, en vue d'une optimisation du mode de traitement des dysplasies cervicales à la Maternité Régionale de Nancy.

Grâce à un suivi de deux ans au minimum, nous avons également comme objectif d'évaluer le taux de complications à distance après traitement par conisation des dysplasies cervicales, à type de sténoses et surtout de récidives de dysplasies, avec analyse de sa corrélation au degré de sévérité anatomopathologique sur pièces de conisations et de la technique thérapeutique utilisée.

2. LES OBJECTIFS SECONAIRES DE L'ETUDE

A travers notre étude, nous avons également comme objectif d'étudier les caractéristiques épidémiologiques des patientes traitées pour dysplasie cervicale, avec notamment une évaluation de l'importance des antécédents de néoplasie intra-épithéliale.

Par ailleurs, nous avons comme objectif d'identifier les facteurs déterminants la sévérité des néoplasies intra-épithéliales (type de FCU initial, aspect colposcopique initial, typage HPV, présence d'HPV16, immunomarquage de la protéine p16INK4a à la biopsie cervicale).

Notre étude avait également comme objectif d'analyser la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a des dysplasies cervicales de haut grade, dans des situations particulières posant actuellement des difficultés de décisions thérapeutiques, à savoir le traitement des patientes présentant un frottis ASC-US et à la biopsie cervicale un CIN2.

Enfin, nous avons comme objectif d'analyser l'influence de l'âge des patientes (plus ou moins 30 ans) sur le degré de sévérité des néoplasie intra-épithéliales, et la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a pour les dysplasies cervicales de haut grade chez les patientes de plus de 30 ans présentant un CIN2 à la biopsie cervicale.

B. RECUEIL DES DONNEES

1. RECUEIL DES DONNEES A LA MATERNITE REGIONALE DE NANCY

Les patientes incluses dans notre étude étaient prises en charge pour dysplasie cervicale et traitées par conisation, quelque soit leur âge et leur parité. Nous avons exclu toutes les patientes aux antécédents de DES, présentant des dysplasies cervicales glandulaires ou un adénocarcinome cervical sur pièce de conisation, ainsi que les patientes dont le diagnostic ou le traitement de la dysplasie cervicale était réalisé durant une grossesse.

Les critères relevés lors de l'étude de cette population concernaient en premier lieu son terrain avec l'âge des patientes et leur parité. La présence d'un antécédent de frottis anormal était noté, dans ce cas le type d'anomalie était décrite ainsi que les délais entre ce frottis anormal et le frottis à l'origine de la procédure de conisation. La notion de traitement antérieur pour dysplasie cervicale était également relevée.

Concernant la prise en charge de la lésion de dysplasie cervicale, le résultat de l'analyse cytologique à l'origine de la procédure aboutissant à la réalisation d'une conisation était recueilli selon la classification de Bethesda. Lorsque la recherche d'ADN à HPV était réalisée, on notait la présence ou non d'HPV oncogène, ainsi que la présence tout particulière de l'HPV16.

Pour ce qui était de l'examen colposcopique, on relevait la visualisation ou non de la zone de jonction squamo-cylindrique. Le type de caractérisation colposcopique cervicale lors de l'examen à blanc et après imprégnation cervicale par de l'acide acétique et le lugol, était déterminé. On différenciait ainsi la présence soit d'un ectropion pur, d'une transformation épithéliale normale ou au contraire une transformation épithéliale anormale. Dans ce dernier cas, on notait le type de transformation anormale retrouvée selon la classification de la société française de colposcopie et pathologie cervico-vaginale, ainsi que l'étendue de ces anomalies.

Après réalisation de biopsies cervicales sous contrôle colposcopique, le résultat de l'analyse histologique après coloration à l'hématoxyline/éosine était répertorié. L'évaluation de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a était ensuite notée. Dans notre étude, un immunomarquage positif correspondait à une présence diffuse de la protéine p16INK4a au sein des prélèvements histologiques.

Les délais de prise en charge des patientes étaient calculés comprenant les délais entre le frottis anormal ayant posé l'indication d'un examen colposcopique avec biopsie cervicale, et la réalisation de la biopsie cervicale ayant posé l'indication chirurgicale. De la même façon le délai séparant la biopsie cervicale et le traitement par conisation était relevé, ainsi que le délai total de prise en charge des patientes depuis la découverte de l'anomalie cytologique jusqu'à la réalisation de la conisation.

Concernant la procédure de conisation, il était noté la technique utilisée, le résultat de l'analyse histologique après coloration à l'hématoxyline/éosine, le résultat de l'immunomarquage p16INK4a s'il a été réalisé, ainsi que les limites d'exérèses de la lésion sur pièce de conisation.

Enfin, les complications précoces du traitement par conisation étaient recherchées, à type d'hémorragie immédiate (le jour de l'intervention), d'hémorragie secondaire (dans les 72h qui suivaient la conisation), et d'infection cervico-utérine.

2. RECCUEIL DES DONNEES DU SUIVI POST CONISATION

Notre population était constituée de deux groupes. Une partie des patientes était suivie au long cours à la Maternité Régionale de Nancy. Le reste des patientes étaient prises en charge par des confrères, exerçant en cabinet de ville. Ces médecins (gynécologues et médecins généralistes) ont été sollicités à l'aide de questionnaires répertoriant les données du suivi des patientes ayant eu une conisation à la Maternité Régionale de Nancy entre le 1^{er} Janvier 2007 et le 31 Décembre 2009 (Annexe 4).

La présence d'une complication à distance était notée, à type de sténose ou de récurrence de la dysplasie cervicale. En cas de sténose, le délai de diagnostic était demandé, ainsi que le type de traitement réalisé (dilatation cervicale au bloc opératoire notamment). En cas de récurrence de dysplasie cervicale, le type d'anomalie retrouvée et son délai d'apparition, ainsi que le traitement réalisé devaient être rapportés. Le dernier frottis cervico-utérin était recueilli, ainsi que le délai le séparant du traitement de la dysplasie cervicale par conisation.

C. ANALYSE DES RESULTATS

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées à l'aide des logiciels Excel et SAS version 9.1. Les variables qualitatives étaient exprimées en pourcentages et les variables quantitatives par des moyennes et des médianes. La comparaison des pourcentages a été réalisée au moyen du test du Chi² et si les conditions d'application n'étaient pas remplies un test de Fisher a été utilisé, avec un intervalle de confiance à 95% et un seuil de significativité à 0,05. Un test de Student a été utilisé pour la comparaison des moyennes des variables quantitatives. Les résultats des tests étaient considérés comme significatifs lorsque $p \leq 0,05$. L'évaluation de la concordance diagnostique des procédures réalisées pour le diagnostic des lésions de dysplasies cervicales a été réalisée par test kappa, dont la valeur était d'autant plus meilleure que proche de 1. L'examen histologique sur pièce de conisation faisait fois d'examen de référence.

IV. RESULTATS

Nous allons développer dans un premier temps les résultats de l'analyse descriptive des différents critères de recueil, puis dans un second temps nous exposeront les résultats des différentes analyses statistiques effectuées.

A. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION SELECTIONNEE

1. L'AGE

L'âge moyen des patientes prises en charge à la maternité régionale de Nancy pour conisation était de 35,7 ans [34.6-36.8] avec un âge minimal de 16 ans et maximal de 80 ans. La répartition de ces patientes dans les différentes classes d'âges retrouvait 78 patientes âgées de moins de 25 ans (soit 19,70 %), 139 patientes âgées de 26 à 35 ans (soit 35,10 %), et 179 patientes âgées de plus de 35 ans (soit 45,20 %). Donc, dans notre étude près d'un cinquième des patientes traitées par conisation, étaient âgées de moins de 25 ans.

2. LA PARITE

La parité moyenne des patientes incluses dans l'étude était de 1,20 enfant par patiente, avec une médiane de 1 et un espace interquartile [0-2]. On retrouvait ainsi parmi nos patientes, 149 nullipares (soit 37,63%), 92 primipares (soit 23,23%), et 155 multipares (soit 39,14%). Ainsi près de 40% de nos patientes traitées par conisation, n'avaient pas eu d'enfant auparavant.

3. L'ORIGINE GEOGRAPHIQUE

Nous avons tenté de recueillir l'origine géographique des patientes, devant les différences constatées dans la répartition géographiques de l'infection à HPV, mais malheureusement cette donnée n'était indiquée que dans de rares cas. Donc, de part la faible exhaustivité du recueil, cette caractéristique épidémiologique n'a pu être analysée.

4. ANTECEDENTS DE DYSPLASIE CERVICALE

Parmi les 396 patientes, 94 d'entre elles présentaient des antécédents de dysplasie cervicale (soit un taux de 23,74 %). Ainsi près d'un quart de nos patientes présentait des antécédents de dysplasie cervicale.

Il s'agissait, dans 14 cas (14,89%) d'antécédents de frottis ASCUS, dans 2 cas (2,13%) d'ASC-H, dans 47 cas (50%) de LSIL, et dans 31 cas (32,98%) d'HSIL avec aucun cas de Carcinome épidermoïde du col. Ainsi parmi les patientes avec antécédents de dysplasie cervicale, la moitié d'entre elles présentaient des antécédents de lésions de bas grade, près d'un tiers des antécédents de lésions de haut grade et les autres des anomalies cytologiques de significations indéterminées.

Parmi ces patientes, 55 avaient déjà eu un traitement pour dysplasie cervicale, soit 13,89% de l'ensemble des patientes incluses, dont 31 traitées par vaporisation laser (soit 7,83%) et 24 avaient eu une conisation antérieure (soit 6,06%).

Le délai moyen de récurrence de la dysplasie cervicale était de 33,46 mois, soit près de trois ans après le diagnostic initial de néoplasie intra-épithéliale, avec une médiane à 18 mois et un espace interquartile [7-48].

B. ANALYSE DESCRIPTIVE DES EXPLORATIONS REALISEES EN AMONT DE LA CONISATION

1. ANALYSE CYTOLOGIQUE

Parmi nos 396 patientes, 4 ont eu une reprise chirurgicale par conisation pour berges chirurgicales non saines lors de l'examen histologique de la pièce de conisation lors de la première intervention et n'ont donc pas eu de nouvelle évaluation cytologique cervicale.

Sur les 392 autres patientes, on retrouvait une majorité de frottis de haut grade avec 2 FCU normaux (soit 0,51%), 1 frottis inflammatoire isolé (soit 0,26%), 57 frottis ASCUS (soit 14,54%), 42 frottis ASC-H (soit 10,71%), 119 frottis LSIL (soit 30,36%), 167 frottis HSIL (soit 42,60%) dont 1 frottis HSIL avec risque d'invasion (soit 0,26%), 4 cas de frottis AGC

(soit 1,02%) et aucun cas de frottis HGIL ni de Carcinome épidermoïde diagnostiqué par cytologie.

Ainsi parmi les patientes ayant eu une conisation, une grande majorité présentait des lésions de haut grade (plus de 40% des cas), avec moins de 1% de FCU sans atypie.

<i>FCU</i>	<i>Effectif</i>	<i>Pourcentage</i>	<i>Effectif cumulé</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
<i>Sans atypie</i>	3	0.77	3	0.77
<i>ASC-US</i>	57	14.54	60	15.31
<i>ASC-H</i>	42	10.71	102	26.02
<i>LSIL</i>	119	30.36	221	56.38
<i>HSIL</i>	167	42.60	388	98.98
<i>Autres</i>	4	1.02	392	100.00

Tableau 13 – Répartition des anomalies cytologiques pré-conisation.

2. ANALYSE COLPOSCOPIQUE

a. Jonction squamo-cylindrique

La jonction squamo-cylindrique étant le lieu initial de développement des néoplasies intra-épithéliales, sa visualisation était un élément essentiel de l'examen colposcopique.

Ainsi dans notre étude, 392 patientes ont eu un examen colposcopique. Dans 76 cas la jonction entre l'épithélium cylindrique et stratifié était non visible (soit 19,39%) soit près d'un examen sur cinq, et dans 316 cas la jonction était vue (soit 80,61%).

b. Résultats Colposcopiques

L'examen colposcopique retrouvait une transformation anormale dans 329 cas (soit 83,93%). Pour les autres évaluations colposcopiques, on retrouvait soit un col normal dans 52 cas (soit 13,26%), soit un ectropion pur dans 5 cas (soit 1,28%) et enfin une transformation normale dans 6 cas (soit 1,53%).

Parmi les transformations anormales, on identifiait selon la classification de la SFCPCV 73 cas de TAG1 (soit un taux de 22,19%), avec 66 cas de TAG1a et 7 cas de TAG1b, et 256 cas de TAG2 (soit un taux de 77,81%) avec 235 cas TAG2a, 15 cas de TAG2b, 3 cas de TAG2c, et 3 cas avec signes d'invasions.

Ainsi parmi les patientes ayant eu une conisation, l'impression colposcopique retrouvait une transformation atypique de grade 2 dans près de 80% des cas

<i>Type de Transformation Atypique à la Coloscopie</i>	<i>Effectif</i>	<i>Pourcentage</i>	<i>Effectif cumulé</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
<i>TAG1</i>	73	22.19	73	22.19
<i>TAG2 ou signes d'invasion</i>	256	77.81	329	100.00

Tableau 14 – Répartition des anomalies colposcopiques selon la classification de la SFCPCV.

c. Etendue des anomalies colposcopiques

Parmi les remaniements colposcopiques constatés, on retrouvait dans 31.04% des cas l'atteinte d'un quadrant, dans 44,78% l'atteinte de deux quadrants, dans 6.87% l'atteinte de trois quadrants, et dans 17.31% l'atteinte de quatre quadrants.

3. LE TYPAGE HPV

La recherche de l'ADN à HPV a été effectuée chez 109 patientes (soit 27,53% des patientes). Dans 10 cas la recherche était négative (soit 9,17%), dans 3 cas on retrouvait des HPV non oncogènes (soit 2,76%), et dans 96 cas des HPV oncogènes (soit 88,07%), dont 78 cas avec présence d'HPV 16 (soit 71,56%).

Ainsi lorsque la recherche d'HPV était effectuée chez nos patientes traitées par conisation pour dysplasie cervicale, celle-ci retrouvait la présence d'HPV à haut risque oncogène dans une très large majorité des cas et était dominée par l'identification de l'HPV 16.

4. EXAMEN HISTOLOGIQUE A LA BIOPSIE CERVICALE

Parmi les 392 patientes ayant eu un examen colposcopique, 325 patientes avaient eu un prélèvement biopsique. Parmi les patientes n'ayant pas eu de biopsies cervicales, 4 avaient eu une première conisation avec berges d'exérèses non saines et donc reprise chirurgical, pour les autres la jonction squamo-cylindrique n'était pas visible posant l'indication de conisation diagnostique d'emblé. Il était à noter que certaines patientes avaient eu des biopsies cervicales lors de l'examen colposcopique malgré une jonction squamo-cylindrique non visible.

L'analyse histologique des biopsies cervicales réalisées sous contrôle colposcopique, après coloration à l'hématoxyline-éosine, retrouvait sur les 325 biopsies réalisées, 11 cas de biopsies normales (soit 3.38%), 16 cas de métaplasie (soit 4.93%), 26 cas de condylome et de CIN1 (soit 8%), 145 cas CIN2 (soit 44.62%), 124 cas de CIN3 ou Carcinomes in situ (soit 38.15%) et 3 cas de Carcinomes invasifs (soit 0.92%).

On retrouvait donc aux biopsies cervicales pré-conisations une grande majorité de lésions de haut grade, soit 83,69% des cas, avec tout de même une prédominance de CIN2 lors de ces biopsies cervicales (44,62%).

<i>Anatomopathologie sur Biopsie</i>	<i>Effectif</i>	<i>Pourcentage</i>	<i>Effectif cumulé</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
<i>Sans atypie</i>	27	8.31	27	8.31
<i>CIN1 ou Condylome</i>	26	8,00	53	16.31
<i>CIN2</i>	145	44.62	197	60.93
<i>CIN3 ou +</i>	127	39.07	325	100.00

Tableau 15 – Répartition des anomalies histologiques sur biopsies cervicales réalisées sous contrôle colposcopique.

5. IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE p16INK4a A LA BIOPSIE CERVICALE

Sur l'ensemble des biopsies réalisées, l'étude de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a était effectuée dans 167 biopsies cervicales à partir des mêmes échantillons histologiques que ceux ayant servi à l'analyse nucléo-cytoplasmique après coloration à l'hématoxyline-éosine, soit plus de la moitié des cas (51,38%).

La positivité était caractérisée par un marquage diffus de la protéine p16INK4a. Celui-ci était négatif dans 13 cas (soit un taux de 7,78%), positif dans 154 cas (soit un taux de 92,22%).

Ainsi une majeure partie des patientes ayant eu une conisation, présentaient un marquage positif de la protéine p16INK4a à la biopsie cervicale lorsque celle-ci était recherchée.

6. DELAIS DE PRISE EN CHARGE

Le délai moyen entre le FCU anormal ayant posé l'indication d'examen colposcopique et la biopsie cervicale était de 1.62 mois avec une médiane de 1 mois [1-2].

Le délai moyen entre la biopsie cervicale sous contrôle colposcopique ayant posé l'indication chirurgicale et la conisation était de 2.91 mois avec une médiane de 3 mois [2-4].

Le délai moyen total de prise en charge des patientes présentant une néoplasie intra-épithéliale cervicale suspecte de lésion de haut grade à la Maternité Régionale de Nancy était de 4,58 mois avec une médiane de 4 mois [3-5] depuis le FCU anormal jusqu'au moment de la conisation.

Ainsi la majorité des patientes suspectes de présenter une lésion cervicale de haut grade avaient eu une prise en charge rapide, de moins de cinq mois, pour la réalisation de la thérapeutique par conisation.

C. RESULTATS HISTOLOGIQUES SUR PIECE DE CONISATION

1. TECHNIQUE DE CONISATION

La quasi-totalité des conisations ont été réalisées avec une anse diathermique soit 392 sur 396 des conisations et un taux de 98,99%. Parmi elles, on avait utilisé pour 217 conisations une

anse de Fisher (soit 54,80 %) et pour les 175 autres une anse de Erbé (soit 44,19 %). Pour les conisations restantes, on retrouvait 4 conisations par Laser (soit 1,01 %) et aucune conisation n'a été réalisée à la lame froide.

2. ANALYSE HISTOLOGIQUE NUCLEO-CYTOPLASMIQUE

a. Evaluation morphologique après coloration à l'hématoxyline-éosine

L'analyse histologique définitive des anomalies nucléo-cytoplasmiques cervicales sur pièces de conisations retrouvait sur les 396 pièces de conisations, 17 cas de conisations sans aucune anomalies (soit 4.29%), 2 cas présentant des remaniements inflammatoires (soit 0,51%), 46 cas de métaplasies (soit 11.62%), 28 cas de condylomes et de CIN1 (soit 7,07%), 72 cas de CIN2 (soit 18,18%), et 227 cas de CIN3 ou Carcinome in situ (soit 57.32%), et 4 cas de Carcinome invasif (soit 1.01%).

<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>	<i>Effectif</i>	<i>Pourcentage</i>	<i>Effectif cumulé</i>	<i>Pourcentage cumulé</i>
<i>Sans Atypie</i>	65	16,42	65	16,41
<i>CIN1</i>	28	7,07	93	23.48
<i>CIN2</i>	72	18.18	165	41.67
<i>CIN3 ou +</i>	231	58.33	396	100.00

Tableau 16 – Répartition des anomalies histologiques sur pièces de conisations après coloration à l'hématoxyline-éosine.

On pouvait ainsi dire que sur le contrôle histologique définitif, on retrouvait 16,41% de conisations sans atypies et 76,51% de confirmation de lésions de haut grade (CIN2, CIN3 et Carcinome invasif).

b. Limites d'exérèse de la lésion

Parmi l'ensemble des conisations réalisées, les limites d'exérèses étaient saines dans 382 cas (soit un taux de 96.46%), avec une marge d'exérèse ≥ 5 mm dans 256 cas (soit un taux de 67,02%), et < 5 mm dans 126 cas (soit un taux de 32,98%). Les limites d'exérèses étaient non

saines dans 14 cas (soit un taux de 3,54%), Parmi ces patientes, 4 ont eu une seconde conisation pour berges d'exérèses non saines, et les autres avaient fait le choix d'un traitement radical par hystérectomie.

2. IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE p16INK4a SUR PIECE DE CONISATION

Sur l'ensemble des pièces de conisations, l'évaluation de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a a été réalisée dans 95 cas (soit un taux de 23,99%) afin de préciser le diagnostic final.

Ce marquage était négatif dans 35 cas (soit un taux de 36,84%) et positif dans 60 cas (soit un taux de 63,16%).

Ainsi l'évaluation du marquage de la protéine p16INK4a sur pièce de conisation était loin d'être systématique.

D. ANALYSE STATISTIQUE DE LA RELATION ENTRE LA CYTOLOGIE, LA COLPOSCOPIE ET L'HISTOLOGIE PRE-CONISATION

La seconde partie de notre analyse consistait en une mise en corrélation des différents résultats obtenus par explorations cytologiques, colposcopiques et histologiques, dans un but d'évaluer leur valeur diagnostique pour les lésions de dysplasies de haut grade.

1. RELATION CYTO-COLPOSCOPIQUE

La confrontation des résultats cytologiques aux examens colposcopiques nous permettait de mettre en évidence une relation forte entre le degré de sévérité cytologique et la sévérité de l'impression colposcopique.

Les résultats cytologiques des 326 patientes ayant eu une évaluation colposcopique avec présence d'une transformation anormale, ont ainsi été comparés aux données de celle-ci. Cette

analyse a été réalisée après exclusion des 3 frottis AGC qui correspondaient à 2 colposcopies de type TAG2 et 1 colposcopie de type TAG1.

Ainsi, parmi les patientes présentant un FCU de haut grade HSIL, 86,99% présentaient des anomalies sévères à la colposcopie de type TAG2. Et parmi les patientes présentant un TAG2 à la colposcopie, la grande majorité avait eu un frottis de haut grade HISL soit 50%, lors de l'évaluation cytologique initiale. Parmi les colposcopies de type TAG1, les résultats cytologiques étaient majoritairement des anomalies de bas grade (28,71%) ou de signification indéterminée (ASC-US=34,04% et ASC-H=25%). On retrouvait donc une relation croissante entre le degré de sévérité cytologique et le degré de sévérité colposcopique.

L'analyse statistique évaluant la relation entre les résultats cytologiques et colposcopiques chez nos patientes, a été réalisée par test de Fisher, car l'un des effectifs était inférieur à 5. Cette analyse, retrouvait une relation statistiquement significative entre le degré de sévérité cytologique au FCU et le degré de sévérité des anomalies colposcopiques avec un **p=0,0026**.

Relation liant le FCU et l'examen colposcopique				
FCU Anormal	Type de Transformation Atypique			P
	TAG1	TAG2 ou Signes	Total	
Effectif	d'Invasion			0,0026
Pourcentage ligne/colonne				
ASC-US	16	31	47	
	34,04/21,91	65,96/12,11		
ASC-H	8	24	32	
	25/10,96	75/9,38		
LSIL	29	72	101	
	28,71/39,73	71,29/28,13		
HSIL	19	127	146	
	13,01/26,03	86,99/49,61		
Autres	1	2	3	
	33,33/1,37	66,67/0,78		
Total	73	256	329	

Tableau 17 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques et colposcopiques à l'origine des conisations.

Dans un second temps, nous avons exclu l'échantillon « Autres » contenant 3 cas de frottis avec anomalies glandulaires, permettant la réalisation d'un test de Chi² (car aucun échantillon < 5). Cette analyse statistique confirmait les premières données, avec **p=0.0021**.

2. RELATION CYTO-HISTOLOGIQUE

Les résultats de l'analyse cytologique étaient ensuite confrontés à ceux obtenus par l'examen histologique sur biopsies cervicales, afin d'évaluer la valeur diagnostique d'une cytologie cervicale avec anomalie de haut grade pour le diagnostic de néoplasie intra-épithéliale de haut grade.

Cette analyse a été réalisée après exclusion des frottis AGC qui de part leur faible effectif limitait l'analyse statistique. Elles correspondaient à 1 cas de biopsie normale et 2 cas de biopsies CIN3.

Parmi les frottis de haut grade (HSIL), la majorité des biopsies cervicales retrouvaient des dysplasies de haut grade (CIN2 et 3) à l'histologie soit un total de 86,67%, avec au minimum une CIN2 (soit 37,67%) ou une CIN3 (soit 50%).

Pour ce qui était des frottis de bas grade (LSIL), la majorité des biopsies étaient classées en CIN2 (soit 55,67%) avec beaucoup moins de CIN3 ou de lésions plus sévères (soit 29,29%).

Parmi les frottis de significations indéterminées, on retrouvait également une majorité de biopsies CIN2 pour les ASC-US (soit 35,30%) et de biopsies CIN3 pour les ASC-H (soit 44,12%). Mais c'est également dans cette catégorie que l'on retrouvait le plus de biopsies normales malgré les limites d'interprétation du fait du faible effectif.

Ainsi la sensibilité diagnostique de la cytologie pour le diagnostic de lésions de haut grade sur biopsies cervicales était de 47,06%, la spécificité était quand à elle de 20%, la VPP de 87,67 et la VPN de 18,18%.

L'évaluation de la relation statistique entre l'analyse cytologique à la l'origine de la procédure de conisation, et l'examen anatomopathologique après prélèvements biopsiques sous contrôle colposcopique a été réalisé par test de Fisher, car l'un des effectifs était inférieur à 5.

Ainsi une relation statistiquement significative était retrouvée entre le degré de sévérité cytologique et le degré de sévérité des anomalies histologiques avec **p=0.0284**.

Ces résultats étaient confirmés de part des Odds Ratios élevés, lors de l'évaluation statistique de la relation entre frottis ASC-US et biopsies CIN2, frottis ASC-H et biopsies CIN3, frottis LSIL et biopsies CIN2 et entre frottis HSIL et biopsies CIN3 ou lésion invasive.

Relation liant le résultat du FCU et l'examen histologique sur biopsie cervicale					
FCU Anormal	Anatomopathologie à la Biopsie				P
Effectif	Sans atypie	Condylome	CIN2	CIN3 ou +	Total
Pourcentage	ou CIN1				0.0284
ligne/colonne					
ASC-US	6	3	24	12	45
	13,33/25	6,67/11,54	53,33/16,55	26,67/9,45	
ASC-H	4	3	12	15	34
	11,76/16,67	8,82/11,54	35,30/8,28	44,12/11,81	
LSIL	5	11	54	27	97
	5,15/20,83	11,34/42,31	55,67/37,24	27,84/21,26	
HSIL	9	9	55	73	146
	6,16/37,50	6,17/34,61	37,67/37,93	50/57,48	
Total	24	26	145	127	322

Tableau 18 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques à l'origine des conisations et histologiques sur biopsies cervicales.

Lorsqu'on s'est intéressé à la relation entre l'anomalie cytologique au FCU à l'origine de la procédure de conisation, et le résultat anatomopathologique sur pièce de celle-ci, un lien statistiquement significative au seuil de 5% a également été retrouvé (**p<0.0001**). Nous avons fait le choix d'exclure de cette analyse les frottis normaux (au nombre de 3) qui correspondaient tous à des conisations sans aucune anomalie dysplasique et les frottis AGC (au nombre de 4) qui correspondaient à une conisation normale et 3 conisations avec des lésions de CIN3. Ce choix s'expliquait par le très faible effectif de ces deux groupes entravant la réalisation de l'analyse statistique. 4 patientes n'avaient pas eu de frottis initial.

Ainsi on retrouvait également une relation statistiquement négative entre un FCU ASC ou LSIL et un CIN3 ou lésion invasive à la conisation. A contrario, on retrouvait une relation statistique positive entre un FCU HSIL et une dysplasie cervicale de haut grade à la conisation

avec une prédominance de CIN3 soit un taux de 75.45% de conisations de type CIN3 ou plus et très peu de conisations normales ou de bas grade (respectivement 6,59% et 5,39%).

Ainsi la sensibilité diagnostique de la cytologie pour les lésions de haut grade sur pièces de conisations était de 49,16%, la spécificité était quand à elle de 76,74%, la VPP de 88,02% et la VPN de 30.28%.

Relation liant l'Anomalie au FCU et l'examen Anatomopathologie à la Conisation						
FCU	Anatomopathologie à la Conisation					
Anormal						
Effectif	Sans atypie	Condylome	CIN2	CIN3 ou +	Total	P
Pourcentage	ou CIN1					<0.0001
ligne/ colonne						
ASC-US	13	2	15	27	57	
	22,81/22,41	3,51/7,14	26,32/20,55	47,36/11,95		
ASC-H	11	1	7	23	42	
	26,19/28,95	2,38/3,57	16,67/9,59	54,76/10,18		
LSIL	23	16	30	50	119	
	19,33/39,55	13,45/57,14	25,21/41,10	42,01/22,12		
HSIL	11	9	21	126	167	
	6,59/1,89	5,39/32,15	12,57/28,76	75,45/55,75		
Total	58	28	73	226	385	

Tableau 19 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques à l'origine des conisations et histologiques sur pièces de conisations.

3. RELATION COLPO-HISTOLOGIQUE

Par la suite, était réalisée une confrontation des résultats des examens colposcopiques aux résultats des analyses histologiques sur biopsies cervicales. Celle-ci nous permettait de mettre en évidence une relation forte entre le degré de sévérité colposcopique et la sévérité des résultats histologiques sur biopsie cervicale.

Parmi les lésions de bas grade (Condylome ou CIN1), la majorité des patientes avaient un TAG1 à la colposcopie (soit 64%), alors que parmi les lésions de haut grade, la majorité

d'entre elles présentaient un TAG2 à la colposcopie (soit 89,81%), avec respectivement pour les CIN2 un taux de 83,45% et pour les CIN3 un taux de 82,68% de TAG2 et beaucoup moins de TAG1, respectivement 33,82% et 32,35%.

Ainsi la sensibilité diagnostique de la colposcopie pour les lésions de haut grade sur biopsies cervicales était de 83,08%, la spécificité était de 48,94%, la VPP de 90,20% et VPN de 33,82%.

L'évaluation statistique de la relation entre l'examen colposcopique ayant abouti à la réalisation de biopsie cervicale et l'examen histologique sur biopsie cervicale était réalisée par test de Fisher, car l'un des effectifs était inférieur à 5.

Cette analyse statistique mettait ainsi en évidence une relation significative entre la sévérité des anomalies colposcopiques et la sévérité des dysplasies cervicales histologiques sur biopsies cervicales avec un **p < 0.0001**.

<i>Relation liant l'examen colposcopique et l'examen histologique sur biopsie cervicale</i>						
<i>Colposcopie</i>	<i>Anatomopathologie à la Biopsie</i>				<i>P</i>	
<i>Effectif</i>	<i>Sans atypie</i>	<i>Condylome</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou +</i>	<i>Total</i>	< 0.0001
<i>Pourcentage</i>	<i>ou CIN1</i>					
<i>ligne/</i>						
<i>colonne</i>						
TAG1	7	16	23	22	68	
	10,30/31,82	23,53/64	33,82/16,55	32,35/17,32		
TAG2	15	9	116	105	245	
	6,12/68,18	3,67/36	47,35/83,45	42,46/82,68		
Total	22	25	139	127	313	

Tableau 20 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats colposcopiques à l'origine des biopsies cervicales et histologiques sur biopsies cervicales.

L'analyse statistique évaluant la relation entre les anomalies colposcopiques constatées et les résultats histologiques à la conisation, mettait également en évidence un lien statistiquement significatif au seuil de 5% (**p=0,0048**).

Ainsi la grande majorité des dysplasies de haut grade à la conisation étaient associées à une colposcopie de type TAG 2 surtout dans le cas des CIN3 avec 76,67% de TAG2, mais également pour les CIN2 avec 82,86% de TAG2. La sensibilité diagnostique des colposcopies de type TAG2 pour les dysplasies cervicales de haut grade était de 81,48%, mais la spécificité était plus faible de 38,98%, la VPP de 85,93% était bonne et la VPN était de 31,51%.

<i>Relation liant l'examen colposcopique et l'examen histologique sur pièces de conisations</i>					
<i>Colposcopie</i>	<i>Anatomopathologie à la conisation</i>				<i>P</i>
<i>Effectif</i>	<i>Sans atypie</i>	<i>Condylome</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou +</i>	<i>Total</i>
<i>Pourcentage</i>	<i>ou CIN1</i>				
<i>ligne/ colonne</i>					
<i>TAG1</i>	11	12	14	36	73
	15,07/29,73	16,44/54,55	19,18/23,33	49,31/17,14	
<i>TAG2</i>	26	10	46	174	256
	10,15/70,27	3,91/45,45	17,97/76,67	67,97/82,86	
<i>Total</i>	37	22	60	210	329

Tableau 21 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats colposcopiques à l'origine des conisations et histologiques sur pièces de conisations.

Enfin, à l'analyse statistique évaluant la relation entre l'étendue des anomalies colposcopiques constatées et le résultat anatomopathologique à la conisation, on ne mettait pas en évidence de relation statistiquement significative au seuil de 5% ($p=0.7077$). L'analyse a porté sur les 335 patientes qui présentaient une transformation à la colposcopie (329 transformations anormales et 6 transformations normales). On peut néanmoins noter que la grande majorité des dysplasies de haut grade avaient une importante étendue des anomalies colposcopiques avec atteinte des 4 quadrants dans 74,14% des cas de CIN3 et lésions invasifs.

Relation liant l'étendu des anomalies colposcopiques et les résultats histologiques à la Conisation

Etendue	Anatomopathologie à la conisation				Total	P
	Sans atypie	CIN1 ou Condylome	CIN2	CIN3 ou +		
Effectif						0.7077
Pourcentage ligne						
1 quadrant	14	8	21	61	104	
	13,46	7,69	20.19	58.66		
2 quadrants	18	9	30	93	150	
	12	6	20.00	62.00		
3 quadrants	2	3	3	15	23	
	8,70	13,04	13.04	65.22		
4 quadrants	5	2	8	43	58	
	8,62	3,45	13.79	74.14		
Total	39	22	62	212	335	

Tableau 22 – Evaluation statistique de la relation liant l'étendue des anomalies colposcopiques et les résultats histologiques sur pièces de conisations.

Parmi les patientes avec jonction squamo-cylindrique non visible on retrouvait parmi les résultats anatomopathologiques sur pièce de conisation, 26 cas sans atypies (soit 34,21%), 10 cas de CIN1 (soit 13,16%), 14 cas de CIN2 (soit 18,42%), et 26 cas de CIN3 et plus (soit 34,21%). On mettait donc en évidence 52,63% de lésions de haut grade sur pièces de conisations parmi les colposcopies sans visualisation de la jonction squamo-cylindrique, avec néanmoins plus d'un tiers de conisations sans anomalies.

Anatomopathologie à la conisation lorsque la jonction était non vue	Effectif	Pourcentage	Effectif cumulé	Pourcentage cumulé
Sans atypie	26	34,21	26	34,21
CIN1 ou Condylome	10	13,16	36	47,37
CIN2	14	18,42	50	65,79
CIN3 ou +	26	34,21	76	100.00

Tableau 23 – Evaluation de la répartition des résultats anatomopathologiques sur pièces de conisations chez les patientes sans visualisation de la jonction squamo-cylindrique.

4. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE EXAMENS HISTOLOGIQUES SUR BIOPSIES CERVICALES ET SUR PIÈCES DE CONISATIONS.

La confrontation des résultats histologiques sur biopsies cervicales à ceux retrouvés sur pièces de conisations permettait de mettre en évidence une relation forte entre ces deux examens.

On retrouvait parmi les biopsies de bas grade, une majorité de lésions sans atypies soit un taux de 38,46 %, un grand nombre de lésions sous évaluées avec 11,54 % de CIN2 et 26,92% de CIN3, et seulement 23,08 % de lésions concordantes de CIN1,

Pour les biopsies CIN2, il y avait une nette prédominance de lésions également sous évaluées avec un taux de 53,10 % de conisations CIN3 ou plus, seulement 31,05 % de lésions concordantes CIN2, et seulement 15,97 % de lésions sur-évaluées de type CIN1 (soit 6,90 %) et sans atypies (soit 8,97 %).

Parmi les biopsies CIN3, on retrouvait une grande majorité de conisations concordantes avec 88,89 % de CIN3 ou plus, 6,30 % de CIN2, et seulement 1,57 % de CIN1 et 3,15 % sans atypies.

Ainsi la sensibilité diagnostique des biopsies cervicales pour les dysplasies de haut grade était de 90,67% et la spécificité basse de 49,12%, la VPP de 89,34% et la VPN de 52,83%.

L'analyse statistique évaluant la relation entre les résultats anatomopathologiques des biopsies cervicales et les résultats anatomopathologiques sur pièces de conisations, mettait en évidence un lien statistiquement significatif au seuil de 5% ($p < 0.0001$) pour le diagnostic de lésions de dysplasies cervicales de haut grade.

<i>Relation liant le résultat histologique à la biopsie cervicale et à la conisation</i>						
<i>Anatomo- pathologie à la Biopsie Effectif Pourcentage Ligne/colonne</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>					<i>P</i>
	<i>Sans atypie</i>	<i>CIN1 ou Condylome</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou +</i>	<i>Total</i>	
<i>Sans atypie</i>	9 33,34/25	3 11,11/14,29	4 14,81/6,67	11 40,74/5,29	27	<0.0001
<i>CIN1 ou Condylome</i>	10 38,46/27,78	6 23,08/28,57	3 11,54/5	7 26,92/3,66	26	
<i>CIN2</i>	13 8,97/36,11	10 6,90/47,62	45 31,03/75	77 53,10/37,02	145	
<i>CIN3 ou +</i>	4 3,15/11,11	2 1,57/9,52	8 6,30/13,33	113 88,98/54,33	127	
<i>Total</i>	36	21	60	208	325	

Tableau 24 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats histologiques sur biopsies cervicales et sur pièces de conisations.

Cette analyse statistique nous permettait d'évaluer la concordance entre les examens anatomopathologiques réalisées sur fragments biopsiques sous contrôle colposcopique, et ceux des examens anatomopathologiques définitifs sur pièces de conisations. Cette concordance était évaluée à l'aide d'une forme de notation multiple de statistique kappa. Les valeurs de kappa étaient indiquées comme une mesure de la concordance entre les examens pathologiques du panel, dans laquelle les effets du hasard étaient corrigés.

Le test de kappa permettait de déterminer un coefficient de concordance kappa pondéré mesuré à **0.4378** significativement supérieur à 0 ($p < 0,0001$), mais avec un résultat qui restait néanmoins moyen.

E. INTERET DIAGNOSTIQUE DE L'IMMUNOMARQUAGE DE LA PROTEINE P16INK4a A LA BIOPSIE CERVICALE

Afin d'évaluer la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a dans les dysplasies cervicales de haut grade, nous avons d'abord évalué sa valeur diagnostique sur fragments de biopsies cervicales.

Ainsi nous avons constaté que la protéine p16INK4a était rarement exprimée sur biopsie cervicale lorsque à postériori l'examen anatomopathologique de celle-ci était normal (75% des biopsies normales étaient p16INK4a négatives). A contrario, lorsque l'examen anatomopathologique de la biopsie cervicale retrouvait une dysplasie de haut grade, le marquage de la protéine p16INK4a était positif dans 99,02% des CIN2 et dans 100% des CIN3.

Ainsi la sensibilité diagnostique du marquage p16INK4a des dysplasies de haut grade était de 99,28% et la spécificité de 44,44%, la VVP de 90,26% et la VPN de 92,31%.

Ces résultats plaident fortement en faveur d'une bonne valeur diagnostique de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a des dysplasies cervicales de haut grade du col utérin. Cette relation était évaluée par analyse statistique à l'aide d'un test de Fisher retrouvant un p statistiquement significatif **< 0.0001**.

<i>Relation liant le marquage P16 sur biopsie et l'examen anatomopathologique à la biopsie</i>				
<i>Anatomopathologie à la Biopsie</i>	<i>p16INK4a à la Biopsie</i>			<i>P</i>
	<i>Négatif</i>	<i>Positif</i>	<i>Total</i>	
<i>Effectif</i>				< 0.0001
<i>Pourcentage ligne/colonne</i>				
<i>Sans atypie</i>	3	1	4	
	75.00/23.08	25.00/0.65		
<i>Condylome ou CIN1</i>	9	14	23	
	39.13/69.23	60.87/9.09		
<i>CIN2</i>	1	101	102	
	0.98/7.69	99.02/65.58		
<i>CIN3 ou Invasion</i>	0	38	38	
	0.00/0.00	100.00/24.68		
<i>Total</i>	13	154	167	

Tableau 25 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a sur biopsies cervicales et les résultats histologiques sur biopsies cervicales.

Ensuite pour évaluer la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a dans les dysplasies cervicales de haut grade, nous avons pris comme examen de référence l'examen anatomopathologique sur pièces de conisations, que l'on a comparé aux résultats de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a sur fragments biopsiques.

On retrouvait ainsi sur l'ensemble des biopsies avec réalisation d'un immunomarquage de la protéine p16INK4a seulement 13 biopsies p16INK4a négatives, soit un taux de 7,78 % des biopsies avec évaluation de la protéine p16INK4a. 4 pièces opératoires étaient indemnes de toute lésion dysplasique, soit un taux de 1,23 %.

On identifiait parmi les biopsies p16INK4a positives, une grande majorité de conisations avec lésions de haut grade avec un taux de 84,42 %, comprenant 24,03 % de CIN2, et 60,39 % de CIN3, et seulement 14,94 % de lésions de bas grade.

Alors que l'on retrouvait parmi les biopsies p16INK4a négatives une grande majorité de conisations avec des lésions de bas grade (soit un taux de 46,15 %), ce lien était probablement sous estimé de part le faible effectif de ce groupe, mais renforcé par la présence de beaucoup moins de lésions de haut grade avec 23,08 % de CIN2, et 23,08 % de CIN3 ou plus.

L'analyse statistique évaluant la relation entre l'immunomarquage de la protéine p16INK4a sur biopsies cervicales et les résultats anatomopathologiques sur pièces de conisations, mettait en évidence un lien statistiquement significatif au seuil de 5% (**p=0.004**). Ce résultat se confirmait après regroupement des dysplasies cervicales de haut grade avec un **p = 0.003**.

L'analyse de la valeur diagnostique de l'immunomarquage de la protéine p16INK4a isolé, retrouvait une sensibilité de 95,58% et une spécificité de 22,59%, une valeur prédictive positive de 84,41% et négative de 53,85%.

Ainsi parmi les dysplasies de haut grade, 95,59% présentaient un marquage p16INK4a positif avec 4,41% de faux négatifs de la p16INK4a.

L'évaluation de cette relation se heurtait à une difficulté, le faible effectif des patientes avec un marquage p16INK4a négatif, soit 13 cas avec autant de lésions sans atypies ou de bas grade que de lésions de haut grade sur pièces de conisations.

<i>Relation liant l'immunomarquage la p16INK4a à la Biopsie et le résultat Anatomopathologique à la Conisation</i>			
<i>p16INK4a à la Biopsie</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>		<i>Total</i>
	<i>Sans atypie ou bas grade</i>	<i>CIN2 ou +</i>	
<i>Effectif</i>			<i>P</i>
<i>Pourcentage ligne/colonne</i>			<i>0.003</i>
<i>Négatif</i>	7	6	13
	53,85/22.58	46,15/4.41	
<i>Positif</i>	24	130	154
	15,58/77.42	84,42/95.59	
<i>Total</i>	31	136	167

Tableau 26 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a et les résultats histologiques sur pièces de conisations après regroupement des dysplasies en lésions de bas grade ou sans atypie de et les lésions de haut grade.

Si l'on s'intéressait à la situation particulière des patientes ayant présenté un frottis ASC-US avec à la biopsie une CIN2, on répertoriait 18 patientes avec toutes un marquage p16INK4a positif sur biopsies cervicales. Après réalisation d'une conisation, on retrouvait chez 16 d'entre elles une lésion de haut grade soit une sensibilité de 100%. Cette analyse était très limitée de part le faible effectif de ce sous-groupe.

Relation liant la p16INK4a à la Biopsie et l'examen Anatomopathologique à la Conisation en cas de Frottis ASC-US et Biopsie CIN2

<i>p16INK4a à la Biopsie</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>		<i>Total</i>
	<i>Sans atypie ou bas grade</i>	<i>CIN2 ou +</i>	
<i>Effectif</i>			
<i>Pourcentage ligne</i>			
<i>Négatif</i>	0	0	0
	0,00	0,00	0,00
<i>Positif</i>	2	16	18
	11,11	88,89	100
<i>Total</i>	2	16	18

Tableau 27 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a sur biopsies et les résultats histologiques sur pièces de conisations, chez les patientes avec frottis ASC-US et biopsies CIN2

On s'est ensuite intéressé à une autre situation particulière qu'était celle des patientes de moins de 30 ans ayant présenté à la biopsie cervicale une CIN2, afin d'évaluer la valeur diagnostique du marquage p16INK4a sur biopsie cervicale des lésions de haut grade sur pièce de conisation. On répertoriait 54 patientes dans cette situation mais avec une seule d'entre elles présentant une biopsie CIN2 et immunomarquage p16INK4a négatif sur biopsie cervicale, malgré la présence d'une dysplasie de haut grade à la conisation. Tandis que parmi les biopsies CIN2 et marquage p16INK4a positif, 88,68% se confirmaient comme étant des lésions de haut grade CIN2 ou plus. Cette analyse était également très limitée de part le faible effectif de ce sous-groupe.

Relation liant la p16INK4a à la Biopsie et l'examen anatomopathologique à la Conisation chez les patientes de moins de 30 ans avec Biopsie CIN2

<i>p16INK4a à la Biopsie</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>		<i>Total</i>
	<i>Sans atypie ou bas grade</i>	<i>CIN2 ou +</i>	
<i>Effectif</i>			
<i>Pourcentage ligne</i>			
<i>Négatif</i>	0	1	1
	0,00	100	
<i>Positif</i>	6	47	53
	11,32	88,68	
<i>Total</i>	6	48	54

Tableau 28 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a sur biopsies et les résultats histologiques sur pièces de conisations, chez les patientes de moins de 30 ans avec biopsies CIN2.

Par la suite nous avons évalué chez les patientes présentant un immunomarquage positif de la protéine p16INK4a sur fragments biopsiques, la relation entre l'examen anatomopathologique sur biopsie et le résultat de l'examen anatomopathologique définitive sur pièce de conisation. L'analyse statistique, retrouvait ainsi un lien statistiquement significatif entre ces deux examens au seuil de 5% ($p < 0.0001$).

Ainsi on retrouvait parmi les lésions de bas grade à la biopsie cervicale aucun examen négatifs, 53,33 % de lésions bas grade concordantes, 20 % de CIN2 et 26,67 % de CIN3 ou plus.

Parmi les biopsies CIN2, on retrouvait 2,63 % d'examens négatifs, 14,85 % de lésions bas grade, 30 % de lésions CIN2 concordantes et, 55,45 % de CIN3 ou plus.

Parmi les biopsies CIN 3 et plus, on ne retrouvait aucune lésion bas grade, 10,53 % de lésions CIN2 et 86,84 % de CIN3 ou plus concordantes.

Ainsi l'évaluation de la valeur diagnostique de lésions de haut grade sur pièces de conisations à partir des biopsies cervicales chez les patientes porteuses d'un marquage p16INK4a positif retrouvait une sensibilité de 94,62%, une spécificité de 33,33%, une VPP de 88,48% et VPN de 53,33%.

Relation liant chez les patientes p16INK4a positive à la biopsie, l'examen histologique sur biopsie et à la conisation

<i>Anatomo- pathologie à la Biopsie Effectif Pourcentage ligne</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>					<i>P</i> <0,0001
	<i>Sans atypie</i>	<i>CIN1 ou Condylome</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou +</i>	<i>Total</i>	
<i>Sans atypie</i>	0 0.00	0 0.00	0 0.00	0 0.00	0	
<i>CIN1 ou Condylome</i>	0 0.00	8 53,33	3 20.00	4 26.67	15	
<i>CIN2</i>	0 0.00	15 14.85	30 15.084	56 55.45	101	
<i>CIN3 ou +</i>	1 2.63	0 0.00	4 10.53	33 86.84	38	
<i>Total</i>	1	23	37	93	154	

Tableau 29 – Evaluation statistique chez les patientes avec immunomarquage positif de la p16INK4a sur biopsie de la relation liant les résultats histologiques sur biopsies cervicales et pièces de conisations.

Cette analyse statistique nous permettait d'évaluer la concordance des deux examens anatomopathologiques chez les patientes p16INK4a positives. Cette concordance était évaluée par un test de kappa permettant de déterminer un coefficient de concordance kappa pondéré qui était égal à **0.3613**. Néanmoins dans cette association significative entre les 2 examens histologiques, la concordance restait moyenne, bien que significativement supérieure à 0 (**p<0,0001**).

F. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE L'ÂGE ET LA PARITE DES PATIENTES ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A LA CONISATION

L'analyse statistique évaluant la relation entre l'âge des patientes et le résultat anatomopathologique à la conisation, retrouvait une relation statistiquement significative au

test de Fisher $p = 0.0129$. Par ailleurs, on a constaté que les valeurs les plus élevées du test étaient retrouvées lors de l'association âge inférieur ou égale à 25 ans et conisation de bas grade, âge supérieur à 35 ans et conisation ne retrouvant aucune anomalie dysplasique.

L'analyse statistique évaluant la relation entre la parité des patientes et le résultat anatomopathologique à la conisation, retrouvait une tendance à une parité plus élevée chez les femmes présentant un résultat normal pour l'examen anatomopathologique sur pièce de conisation, bien que cette tendance ne soit pas statistiquement significative au seuil de 5% ($p=0.0597$).

Pour ce qui était des conisations avec dysplasies cervicales, les parités des patientes étaient assez comparables.

Relation liant l'âge des patientes et l'examen anatomopathologique à la conisation					
Médiane et espace interquartile	Anatomopathologie à la conisation				P
	Sans atypie N=17	Condylome ou CIN1 N=76	CIN2 N=72	CIN3 ou + N=231	
Age	50 [44;60]	36,5 [28,5;45]	30,5[25,5;40]	34 [27;40]	0.0129
Parité	2 [1;3]	1 [0;2]	1 [0;2]	1 [0;2]	0.0597

Tableau 30 – Evaluation statistique de la relation liant l'âge et la parité des patientes avec les résultats histologiques sur pièces de conisations.

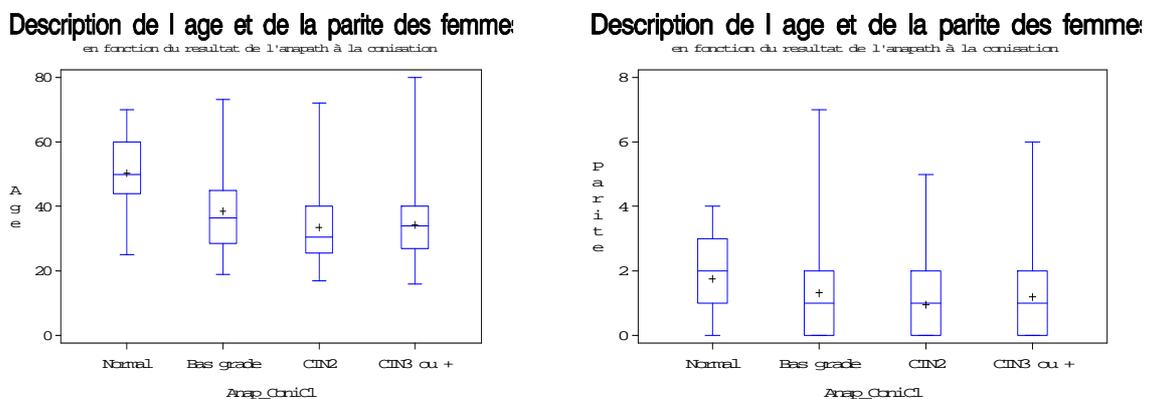


Figure 24 – Evaluation de la répartition de a. l'âge et la b. la parité des en fonction des résultats histologiques sur pièces de conisations.

G. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE UN ANTECEDANT DE FCU ANORMAL ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A LA CONISATION

On notait chez 94 de nos patientes, des antécédents de dysplasies cervicales. On s'est donc intéressé la relation entre le type d'anomalie rencontré dans l'antécédent des patientes et le résultat histologique définitif sur pièce de conisation, pour savoir si leurs degrés de sévérités seraient liés.

L'analyse statistique effectuée à l'aide d'un test de Fisher ne retrouvait pas de relation significative entre ces deux éléments ($p=0,45$). La sévérité de la dysplasie antérieure ne semblait pas intervenir dans le résultat histologique final sur pièce de conisation.

<i>Relation liant les Antécédents de FCU anormal et l'examen Anatomopathologique à la Conisation</i>						
<i>Antécédents de</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>					
<i>FCU anormaux</i>	<i>Sans</i>	<i>CIN1</i>	<i>ou</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou</i>	<i>Total</i>
<i>Fréquence</i>	<i>atypie</i>	<i>Condylome</i>		<i>+</i>	<i>P</i>	
<i>Pourcentage ligne</i>					<i>0.4521</i>	
<i>ASC-US</i>	3	1		1	9	14
	21,43	7,14		7,14	64,29	
<i>ASC-H</i>	0	0		0	2	2
	0.00	0.00		0.00	100	
<i>LSIL</i>	12	8		6	21	47
	25,53	17,02		12,77	44,68	
<i>HSIL</i>	13	0		6	12	31
	41,94	0.00		19,35	38,71	
<i>Total</i>	28	9		13	44	94

Tableau 31 – Evaluation statistique de la relation liant le type d'anomalie à l'antécédent de FCU anormal et les résultats histologiques sur pièces de conisations.

H. EVALUATION DE LA RELATION ENTRE LE TYPAGE HPV ET LA SEVERITE DES DYSPLASIES A LA CONISATION.

L'analyse statistique évaluant la relation entre le typage HPV réalisé après FCU et le résultat anatomopathologique sur pièce de conisation, ne retrouvait pas de lien statistiquement significatif au seuil de 5% ($p=0.8215$). On pouvait néanmoins noter que la grande majorité des dysplasies de haut grade étaient associées à une infection à des HPV oncogènes et surtout à des HPV de type 16 (CIN2=20/109=18,35% ; CIN3=36/109=33,03%).

<i>Relation liant le résultat du Typage HPV et l'examen Anatomopathologique à la Conisation</i>						
<i>Typage HPV</i>	<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>					
<i>Effectif</i>	<i>Sans</i>	<i>CIN1 ou</i>	<i>CIN2</i>	<i>CIN3 ou</i>	<i>Total</i>	<i>P</i>
<i>Pourcentage ligne</i>	<i>atypie</i>	<i>Condylome</i>		<i>+</i>		<i>0.8215</i>
<i>Absence d'HPV</i>	1	2	2	5	10	
	10.00	20.00	20.00	50.00		
<i>HPV+ non oncogène</i>	0	1	0	2	3	
	0.00	33.33	0.00	66.67		
<i>HPV16 +</i>	3	19	20	36	78	
	3.85	24.36	25.64	46.15		
<i>HPV+ oncogène autre que 16</i>	2	3	6	7	18	
	11.11	16.67	33.33	38.89		
<i>Total</i>	6	25	28	50	109	

Tableau 32 – Evaluation statistique de la relation liant le typage HPV et les résultats histologiques sur pièces de conisations.

I. SUIVI POST-CONISATION

Les données concernant le suivi des patientes traitées par conisation pour dysplasie cervicale, étaient recueillies, pour une partie à partir des dossiers gynécologiques de la maternité Régionale e Nancy pour ce qui était des complications précoces, et pour l'autre partie en y

associait les réponses aux questionnaires adressés aux correspondants locaux assurant le suivi au long cours de certaines de ces patientes.

1. COMPLICATIONS PRECOCES

Dans le postopératoire précoce, on retrouvait 13 cas de complications (soit un taux de 3,28%), avec 1 cas d'hémorragie précoce dans les 3h ayant suivi la conisation (soit un taux de 0.25%) avec nécessité d'une reprise chirurgicale avec hémostase au bloc opératoire, et 12 cas d'hémorragies secondaires dans les 7 jours ayant suivi la conisation (soit un taux de 3,03%) avec ré-hospitalisation mais sans nécessité de reprise chirurgicale. Aucun cas d'infection n'était relevé. Dans 383 cas aucune complication précoce n'a été notée (soit un taux de 96.72%).

2. COMPLICATIONS A DISTANCE

Concernant les résultats du suivi à distance, ont été rapportées les taux de sténoses et leurs traitements, les taux de récurrences avec leurs délais d'apparitions et leurs prises en charges. Enfin le dernier statut cervical cytologique était noté avec son recul par rapport à la conisation. Les analyses ont été réalisées par année de recueil (2007, 2008, 2009).

Sur les 396 patientes traitées par conisations, 26 étaient perdues de vue soit un taux de 6,57%, il s'agissait de patientes jamais revues après traitement par conisation (11 pour les conisations réalisées en 2007, 7 en 2008 et 8 en 2009).

Les informations concernant le suivi de 50 des patientes traitées par conisation n'ont pas pu être obtenues.

On retrouvait un taux global de sténose de 3,03% et un taux global de récurrence de dysplasie de 11,11%.

Ainsi le recueil des informations du suivi des patientes retrouvaient les résultats rapportés au tableau 32.

<i>Evolution après conisation</i>	<i>Année</i>	<i>Année</i>	<i>Année</i>	<i>Total</i>
<i>Effectif</i>	<i>2007</i>	<i>2008</i>	<i>2009</i>	
<i>Pourcentage ligne</i>				
<i>Pas de complication</i>	75 63.03	96 67.13	93 69.92	264
<i>Sténose</i>	6 5.04	4 2.80	2 1.49	12
<i>Récidive de dysplasie</i>	15 12.61	16 11.19	13 9,77	44
<i>Perdue de vue</i>	11 9.24	7 4.90	8 5.97	26
<i>Non renseignée</i>	12 10.08	20 13.99	18 13.43	50

Tableau 33 – Evaluation des complications à distance après traitements par conisation.

a. Durée moyenne de suivi

La durée moyenne de suivi des patientes après la réalisation de la conisation était calculée par année devant un recul différent par année de recueil.

Pour les conisations réalisées en 2007, la durée moyenne de suivi des patientes était de 32,48 mois avec une médiane de 36 mois et un espace inter-quartile de 36 mois.

Pour les conisations réalisées en 2008, la durée moyenne de suivi des patientes était de 28,45 mois avec une médiane de 24 mois et un espace inter-quartile de 24 et 36 mois.

Pour les conisations réalisées en 2009, la durée moyenne de suivi des patientes était de 18,81 mois avec une médiane de 18 mois et un espace inter-quartile de 12 et 24 mois.

b. Sténoses

La première complication possible des dysplasies cervicales traitées par conisation était la sténose cervicale.

Aucun cas de vraie sténose compliquée d'hématimétrie n'a été relevé. Il s'agissait essentiellement de sténoses relatives avec dysménorrhées et jonction squamo-cylindrique non visible.

Ainsi en 2007, 6 patientes avaient présentées une sténose cervicale, il y en avait 4 en 2008 et 2 en 2009.

Le délai de découverte de la sténose chez les patientes après la réalisation de la conisation était calculé par année.

Pour les conisations réalisées en 2007, le délai de découverte de la sténose avait comme moyenne 7 mois et comme médiane 7 mois avec un espace inter-quartile de 6 et 8 mois.

Pour les conisations réalisées en 2008, le délai de découverte de la sténose avait comme moyenne 12 mois et comme médiane 12 mois avec un espace inter-quartile de 3,5 et 6 mois.

Pour les conisations réalisées en 2009, le délai de découverte de la sténose avait comme moyenne 4,75 mois et comme médiane 5 mois avec un espace inter-quartile de 7 et 12 mois.

Un geste chirurgical au bloc opératoire n'a été nécessaire que dans 3 cas.

c. Récidive de dysplasie cervicale

Sur les trois années de recueil, et lors du suivi des 396 patientes traitées par conisations, 44 patientes ont présentées une récurrence de néoplasie intra-épithéliale cervicale soit un taux de 11,11%.

En 2007, 15 patientes avaient présentées une récurrence de dysplasie cervicale, 16 en 2008 et 13 en 2009.

Le délai de récurrence des dysplasies cervicales après la réalisation de la conisation était calculé par année.

Pour les conisations réalisées en 2007, le délai de découverte de la récurrence des dysplasies cervicales avait comme moyenne 14,33 mois et comme médiane 7 mois avec un espace inter-quartile de 6 et 24 mois.

Pour les conisations réalisées en 2008, le délai de découverte de la récurrence des dysplasies cervicales avait comme moyenne 12,06 mois et comme médiane 12 mois avec un espace inter-quartile de 5 et 15,5 mois.

Pour les conisations réalisées en 2009, le délai de découverte de la récurrence des dysplasies cervicales avait comme moyenne 9,31 mois et comme médiane 5 mois avec un espace inter-quartile de 4 et 13 mois.

Parmi les récurrences notées, on retrouvait une prédominance d'anomalies cytologiques de bas grade avec des taux respectives en 2007/2008/2009 de 66,67, 81,25 et 69,23.

<i>FCU Anormal</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2007</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2008</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2009</i>	<i>Total</i>
<i>ASC-US</i>	3 20.00	2 12.50	2 15.38	7
<i>LSIL</i>	10 66.67	13 81.25	9 69.23	32
<i>HSIL</i>	2 13.33	1 6.25	2 15.38	5
<i>Total</i>	15	16	13	44

Tableau 34 –Caractéristiques du Frottis lors de la récurrence des néoplasies intra-épithéliales après conisations.

Ainsi un traitement de la récurrence de dysplasie cervicale a été réalisé dans 53,33% des cas en 2007, dans 43,75% en 2008 et dans 46,15% en 2009. Il salissait d'un traitement par laser dans la majorité des cas.

<i>Traitement de la</i> <i>récurrence de dysplasie</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2007</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2008</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2009</i>	<i>Total</i>
<i>Aucun</i>	7 46.67	9 56.25	7 53.85	23
<i>Electrocoagulation</i>	1 6.67	0 0.00	0 0.00	1
<i>Laser</i>	5 33.33	6 37.50	3 23.08	14
<i>Conisation</i>	1 6.67	0 0.00	2 15.38	3
<i>Hystérectomie</i>	1 6.67	1 6.25	1 7.69	3
<i>Total</i>	15	16	13	44

Tableau 35 – Type de traitement de la récurrence de dysplasie cervicale.

Nous avons également réalisé une évaluation de la relation liant la technique utilisée pour la réalisation de la conisation et les complications à distance observées après conisation.

Ainsi après utilisation d'une anse de Fisher, on retrouvait 5 sténoses soit un taux de 1,26% et 26 récurrences soit un taux de 6,56%.

Et après utilisation d'une anse de Erbé, on retrouvait 7 sténoses soit un taux de 1,77% et 18 récidives soit un taux de 4,55%.

L'analyse statistique par test de Chi² ne mettait pas en évidence de différence statistiquement significative au seuil de 5% pour le risque de complication après conisation selon le type d'anse utilisée (p=0,2818).

<i>Relation liant la technique de conisation et les complications post-conisation</i>				
<i>Effectif</i>	<i>Sténose</i>	<i>Récidive de</i>	<i>Total</i>	<i>P</i>
<i>Pourcentage ligne/colonne</i>		<i>dysplasie cervicale</i>		<i>0.2818</i>
<i>Anse de Fisher</i>	5	26	31	
	41,67	59,09		
<i>Anse de Erbé</i>	7	18	25	
	58,33	40,91		
<i>Total</i>	12	44	56	

Tableau 36 – Relation liant le type d'anse diathermique utilisée à la conisation et le risque de complication à distance après conisation

Pour finir, le dernier statut cytologique cervical des patientes traitées par conisation était recueilli. On retrouvait des frottis normaux dans 98,28% en 2007, dans 97,17% en 2008, et dans 98,96% en 2009. Donc globalement 98,11% des patientes traitées par conisation avaient un dernier FCU normal.

<i>Dernier FCU</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2008</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2009</i>	<i>Effectif (%)</i> <i>2007</i>	<i>Total</i>
<i>Normal</i>	114 98.28	103 97.17	96 97.96	313
<i>ASC-US</i>	1 0.86	1 0.94	1 1.04	3
<i>LSIL</i>	0 0.00	2 1.89	1 1.04	3
<i>HSIL</i>	1 0.86	0 0.00	0 0.00	1
<i>Total</i>	116	106	98	320

Tableau 37 – Caractéristiques du dernier FCU après traitement par conisation des dysplasies cervicales.

3. RELATION ENTRE LA RECIDIVE DE DYSPLASIE ET LE RESULTAT HISTOLOGIQUE A LA CONISATION

L'analyse statistique de la relation entre le degré de gravité histologique à la conisation et le taux de récurrence a été réalisée à l'aide d'un test de Fisher retrouvant un $p = 0.9472$. Ceci signifiait qu'il n'y avait pas de relation statistique entre la sévérité de la lésion initiale traitée par conisation et le risque de récurrence.

<i>Anatomopathologie à la Conisation</i>	<i>Pas de récurrence</i>	<i>Récurrence</i>	<i>Total</i>	<i>P</i>
<i>Sans Atypie</i>	12 92.31/4,35	1 7.69/2,27	13	0,9472
<i>CIN1</i>	54 85,71/19,57	9 14.29/20,46	63	
<i>CIN2</i>	53 85,48/19,20	9 14.52/20,45	62	
<i>CIN3 ou +</i>	157 86.26/56,88	25 13.74/56,82	182	
<i>Total</i>	276	44	320	

Tableau 38 – Relation entre la récurrence de dysplasie cervicale et le résultat histologique à la conisation.

J. TABLEAUX RECAPITULATIFS DES RESULTATS

<i>Anatomo - pathologie à la biopsie</i>	<i>Sans atypie (N ;%)</i>	<i>Condylome ou CINI (N;%)</i>	<i>CIN2 (N ;%)</i>	<i>CIN3 ou Invasion (N ;%)</i>	<i>P</i>
FCU					0.0284
ASC-US	6 (13,33%)	3 (6,67%)	24 (53,33%)	12(26,67%)	
ASC-H	4 (11,76%)	3 (8,82%)	12 (35,30%)	15(44,12%)	
LSIL	5 (5,15%)	11 (11,34%)	54 (55,67%)	27(27,84%)	
HSIL	9 (6,16%)	9 (6,17%)	55 (37,67)	73 (50%)	
Colposcopie					< 0.0001
TAG 1	7 (10,30%)	16 (23,53%)	23 (33,82%)	22 (32,35%)	
TAG 2	15 (6,12%)	9 (3,67%)	116 (47,35%)	105 (42,46%)	
HPV					0.8215
Absent	1 (10%)	2 (20%)	2 (20%)	5 (50%)	
HPV N O	0 (0%)	1 (33,33%)	0 (0%)	2 (66,67%)	
HPV16	3(3,85%)	19 (24.36%)	20 (25,64%)	36 (46,15%)	
Autre HPV O	2(11,64%)	3 (16,67%)	6 (33,33%)	7 (38,89%)	
Marquage					0.0040
P16					
Négatif	3 (23.08%)	9 (69.23%)	1 (7.69%)	0 (00.00%)	
Positif	1 (0.65%)	14 (9.09%)	101(65.58%)	38 (24.68%)	

O = Oncogène ; N O = Non Oncogène ; p16 = p16INK4a

Tableau 39 – Tableau représentatif de la confrontation des résultats cytologiques, colposcopiques, virologique, d'immunomarquage de la p16INK4a, confrontés aux résultats histologiques à la biopsie cervicale.

<i>Anatomo – pathologie à la conisation</i>	<i>Sans atypie (N ;%)</i>	<i>CIN1 (N;%)</i>	<i>CIN2 (N ;%)</i>	<i>CIN3 ou Invasion (N ;%)</i>	<i>P</i>
FCV					<0.0001
ASC-US	13 (22,81%)	2 (3,51%)	15 (26,32%)	27 (47,36%)	
ASC-H	11 (26,19%)	1 (2,38%)	7 (16,67%)	23 (54,76%)	
LSIL	23 (19,33%)	16 (13,45%)	30 (25,21%)	50 (42,01%)	
HSIL	11 (6,59%)	9 (5,39%)	21 (12,57%)	126 (74,45%)	
Colposcopie					0,0048
TAG 1	11 (15,07%)	12 (16,44%)	14 (19,18%)	36 (49,31%)	
TAG 2	26 (10,15%)	10 (3,91%)	46 (17,97%)	174 (67,97%)	
HPV					0.8215
Absent	1 (10%)	2 (20%)	2 (20%)	5 (50%)	
HPV N O	0 (0%)	1 (33,33%)	0 (0%)	2 (66,67%)	
HPV16	3 (3,85%)	19 (24,36%)	20 (25,64%)	36 (46,15%)	
Autre HPV O	2 (11,64%)	3 (16,67%)	6 (33,33%)	7 (38,89%)	
Etendue des An. colposcopiques					0.7077
1 quadrants	2 (1,92%)	20 (19,23%)	21 (20,19%)	61 (58,65%)	
2 quadrants	2 (1,33%)	25 (16,67%)	30 (20,00%)	93 (62,00%)	
3 quadrants	1 (4,35%)	4 (17,39%)	3 (13,04%)	15 (65,22%)	
4 quadrants	0 (0,00%)	7 (12,07%)	8 (13,79%)	43 (74,14%)	
Anapath Biopsie					<0.0001
Sans atypie	9 (33,34%)	35 (11,11%)	4 (14,81%)	11 (40,74%)	
CIN1	10 (38,46%)	6 (23,08%)	3 (11,54%)	7 (26,92%)	
CIN2	13 (8,97%)	10 (6,90%)	45 (31,03%)	77 (53,10%)	
CIN3 ou +	4 (3,15%)	2 (1,57%)	8 (6,30%)	113 (88,98%)	
Marquage p16					0.0040
Négatif	3 (23,08%)	9 (69,23%)	1 (7,69%)	0 (00,00%)	
Positif	1 (0,65%)	14 (9,09%)	101 (65,58%)	38 (24,68%)	
Evolution					0,9472
Récidive	1 (2,7)	9 (20,46)	9 (20,45)	25 (56,82)	
Pas de Récidive	12 (4,35)	54 (19,57)	53 (19,20)	157 (56,88)	

O = Oncogène ; N O = Non Oncogène ; Anapath = Anatomopathologie ; p16 = p16INK4a

Tableau 40 – Tableau représentatif de la confrontation des résultats cytologiques, colposcopiques, virologique, d'immunomarquage de la p16INK4a, et du suivi, confrontés aux résultats histologiques à la biopsie cervicale.

V. DISCUSSION

Les néoplasies intra-épithéliales cervicales, constituent un groupe hétérogène d'anomalies cervicales de gravité variable. D'une part, les lésions de dysplasies cervicales de bas grade qui nécessitent le plus souvent une simple surveillance et un traitement destructeur conservateur (vaporisation) en cas de persistance de plus de 18 à 24 mois. D'autre part les lésions de dysplasies cervicales de haut grade qui constituent de véritables lésions précancéreuses, avec nécessité le plus souvent d'un traitement par conisation, devant le risque évolutif vers une lésion invasive.

Notre étude s'était particulièrement intéressée aux patientes traitées par conisation, donc par définition des patientes chez qui une lésion de dysplasie cervicale de haut grade était suspectée.

Dans notre pratique quotidienne, en tant que gynécologues-obstétriciens, nous avons un sentiment de rajeunissement des patientes traitées par conisation pour dysplasie cervicale. Notre étude confirmait cette donnée, puisque près de 20 % (soit 19,70 %) des patientes étaient âgées de moins de 25 ans. Lorsqu'on rapportait l'âge de nos patientes aux anomalies histologiques retrouvées à la conisation, les associations statistiques les plus fortes étaient celles liant des anomalies de néoplasies intra-épithéliales de bas grade et un âge inférieur ou égal à 25 ans chez les patientes. Cela nous renvoyait vers l'histoire naturelle de la carcinogénèse du col de l'utérus [51] et nous faisait penser que, même si l'âge de découverte des premières anomalies diminuait, les lésions restaient majoritairement des lésions de bas grade, que l'on sur-traitait probablement sans leur laisser le temps nécessaire à la régression. Ostor en 1993 [52] avait évalué, dans une revue de la littérature portant sur 50 études, les différentes évolutions possibles des néoplasies intra-épithéliales cervicales. Il retrouvait un fort taux de régression de ces lésions, avec un taux de 57% pour les lésions de bas grade, et même de 43% en cas de dysplasies de haut grade. Ces données ont été confirmées par la suite par de nombreux auteurs [38-53]. Concernant les jeunes patientes de moins de 25 ans, les pratiques au sein de notre centre avaient beaucoup évolué : nous avons le sentiment de sur-traiter ces patientes donc notre réflexion nous a poussé à discuter leur prise en charge. Actuellement, toutes les décisions thérapeutiques sont prises collégalement, au cours d'une réunion multidisciplinaire mensuelle comprenant des gynécologues et des anatomopathologistes, avec une réponse individuelle en tenant compte des recommandations actuelles mais également du problème face auquel nous étions confrontés : celui de l'évolution des pratiques sexuelles et de son rajeunissement. Nous distinguons les patientes avec un terrain immunodéprimé, chez qui un dépistage devait être débuté dès l'âge de 20 ans.

Qu'en était-il alors de la confrontation de ces résultats avec les recommandations encore actuelles du dépistage du cancer du col de l'utérus par frottis cervico-utérin ? Ces recommandations françaises, conseillent la réalisation d'un frottis cervico-utérin à partir de l'âge de 25 ans jusqu'à l'âge de 65 ans, à répéter tous les 3 ans après obtention de deux frottis normaux réalisés à 1 an d'intervalle, chez les femmes asymptomatiques ayant ou ayant eu une activité sexuelle [70]. Or, la pratique clinique quotidienne penchait vers un dépistage plus précoce, dont les conséquences restaient incertaines. Il pouvait paraître logique de pratiquer un dépistage cytologique tôt, si l'on considérait la forte association qui existait entre la précocité des premiers rapports et la survenue du cancer invasif elle aussi précoce du col utérin d'une part, et d'autre part, le risque plus important de lésions de CIN3. L'adolescente et la jeune femme présentaient des particularités les distinguant des femmes adultes. Comme nous l'avions développé précédemment, celles-ci présentaient de fortes prévalences d'infections à HPV rendant l'utilisation du test HPV peu rentable. Les lésions ainsi causées étaient par ailleurs accompagnées d'une clairance plus élevée et avec une fréquence plus importante de lésions cytologiques mineures pour lesquelles une surveillance cytologique sans colposcopie était suffisante, et de lésions histologiques de bas grade dont l'évolution naturelle était en règle la guérison, avec rareté des lésions de CIN3 ou de lésions invasives. Ceci autoriserait même, devant des lésions de CIN2 chez des patientes compliantes à une surveillance cytologique et colposcopique, une abstention thérapeutique. Nos résultats nous renvoyaient vers un constat ; celui de la pratique régulière en France de frottis à partir de 20 ans et avec une périodicité soutenue. Les recommandations des sociétés savantes américaines penchaient elles, vers un premier frottis vers l'âge de 21 ans (ou 3 ans après les premiers rapports). Cependant, si les lésions HPV-induites étaient plus fréquentes chez les jeunes femmes mais moins sujettes à évoluer, il n'en restait pas moins que dans les pays où existait un dépistage organisé, il était constaté une élévation dans le temps chez l'adolescente de lésions cervicales et concomitamment plus tard chez les patientes plus âgées, une élévation de l'incidence des lésions invasives et en particulier micro-invasives. Ceci indiquait donc que des infections à HPV chez la jeune femme devaient être prises en considération, et si on ne les traitait pas de manière identique, il était impératif de les suivre [142]. Notre étude ne s'était pas fixé comme objectif l'évaluation de la fertilité des patientes, autre élément important qui était à prendre en compte dans la balance décisionnelle.

Si l'on rapportait ces constats au deuxième élément inquiétant qu'était la parité de nos patientes, on constatait que plus d'un tiers (soit 37,63%) d'entre elles étaient nullipares au

moment de la conisation. Ces données étaient tout à fait en accord avec les données récentes de la littérature. En France, l'âge moyen des patientes chez qui l'on diagnostiquait une CIN, ne cessait de baisser et a été évalué à 29,7 ans en 2004 par Boulanger [66], alors que l'âge de la première grossesse ne cessait d'augmenter, il était de 30 ans en 2010 [67]. L'évaluation de la relation statistique entre la parité des patientes et le résultat histologique à la conisation n'avait pas retrouvé de lien statistiquement significatif au seuil de 5% ($p=0.0597$), mais identifiait une tendance à une parité plus élevée chez les femmes présentant un résultat final normal à l'examen anatomopathologique sur pièce de conisation. Peut-être que ce résultat était expliqué par une stabilité conjugale plus importante chez ces patientes, diminuant ainsi les risques de nouveaux contacts avec des HPV oncogènes. Du fait des conséquences obstétricales du traitement par conisation des dysplasies cervicales, l'importance des patientes nullipares n'en était que plus problématique. En effet, ces traitements étaient connus pour être pourvoyeurs de sténoses cervicales rendant la zone de jonction inaccessible, d'infertilités d'origine cervicales, d'accouchement prématuré et ses conséquences, de risque de rupture prématurée des membranes avant terme avec augmentation de la mortalité périnatale.

Dans notre étude, près d'un quart des patientes présentaient des antécédents de dysplasie cervicale (soit un taux de 23,74 %), dont un tiers (soit 32,98%) étaient des anomalies de haut grade. Le délai de récurrence était généralement de moins de 3 ans et près de la moitié de ces récurrences avaient eu un traitement soit par vaporisation laser devant des lésions de bas grade (56,36%) ou par conisation devant des lésions de haut grade (43,64%). Ces patientes avaient quasiment toutes eu une recherche d'HPV oncogènes qui s'était révélée positive. La persistance de l'infection cervicale au papillomavirus était clairement identifiée comme un facteur de récurrence ou d'évolution des lésions cervicales [145]. La mise en relation de ces anomalies cytologiques avec les résultats anatomopathologiques sur pièce de conisation ne retrouvait pas de lien statistiquement significatif. Ceci confirmait la nécessité de prise en considération de l'antécédent de dysplasie, en relation soit avec une persistance de leur infection à HPV ou la rencontre avec de nouveaux HPV oncogènes. Mais, le traitement de la dysplasie actuelle était essentiellement basé sur la pathologie actuelle à partir des anomalies constatées lors de la procédure d'exploration des patientes.

Nos patientes ont été recrutées par le biais du traitement d'exérèse des dysplasies cervicales qu'était la conisation cervicale, consistant en une excision de la collerette cervicale porteuse des anomalies précancéreuses. Nous nous attendions donc à retrouver, lors des explorations

réalisées au cours de la procédure de prise en charge des patientes, des taux importants d'anomalies sévères aussi bien lors des examens cytologiques initiaux qu'histologiques sur biopsies cervicales réalisées sous contrôle colposcopique.

Concernant les délais de prises en charges de nos patientes, une partie de ces délais était incompressible dépendante de l'obtention des résultats des analyses cytologiques et histologiques, ainsi que de l'évaluation anesthésique et de ses délais légaux. Néanmoins, les délais moyens de prise en charge de nos patientes étaient de 4,58 mois, il n'y avait donc pas de retard à leur prise en charge.

Pour ce qui était des anomalies cytologiques à l'origine des conisations, on retrouvait effectivement une majorité d'anomalies cytologiques de haut grade (42,60%), ce qui était en accord avec la principale indication de conisation qui était de traiter les dysplasies cervicales sévères. Pour ce qui était des lésions de bas grade (30,36%), la conisation était réalisée principalement devant la persistance des anomalies cytologiques après une période de 18 à 24 mois de surveillance avec présence d'anomalies de haut grade aux biopsies cervicales. La confrontation de ces résultats cytologiques aux données histologiques nous permettait d'évaluer sa valeur diagnostique pour les lésions de néoplasies intra-épithéliales de haut grade. Pour ce qui était tout d'abord des résultats histologiques sur biopsie cervicale, ceux-ci étaient très moyens avec une sensibilité de 47,06% et une spécificité de 20%. Au contraire, la valeur prédictive positive était bonne avec un taux de 87,67%, ce qui signifiait que parmi les patientes avec une forte suspicion cytologique de lésions de haut grade (frottis HSIL), la grande majorité d'entre elles était confirmée sur biopsies cervicales. Cette donnée était en partie expliquée par le mode de recrutement de nos patientes. Des patientes traitées pour dysplasies cervicales sévères dont l'indication de conisation n'était pas uniquement posée à partir des résultats cytologiques, rendant la relation d'interprétation difficile. Pour ce qui était des résultats histologiques sur pièces de conisations, des données comparables étaient retrouvées avec tout de même une amélioration de la spécificité (76,45%). C'était parmi les lésions de CIN2 que les résultats cytologiques étaient les plus disparates aussi bien sur biopsie que sur pièce de conisation, confirmant les caractérisations récentes des CIN2 comme étant un groupe hétérogène [53]. Néanmoins, une relation statistiquement positive entre le degré de sévérité cytologique et le degré de sévérité anatomopathologique, entre frottis HSIL et biopsies CIN3 ou lésion invasive était retrouvée. Cette corrélation était encore plus forte en ce

qui concernait les examens histologiques sur pièce de conisations avec très peu de conisations normales ou de bas grade en cas de frottis HSIL.

L'évaluation colposcopique retrouvait 77,81% de transformations atypiques de type 2. La confrontation des résultats colposcopiques à ceux de l'histologie mettait en évidence, parmi les patientes avec biopsies cervicales de haut grade, une nette majorité de colposcopies TAG2 avec des taux de 83,69 % pour les CIN2 et 82,40% pour les CIN3. La colposcopie présentait donc une bonne sensibilité diagnostique pour les lésions de haut grade de 83,08%, une VPP de 90,20% sur biopsie, une sensibilité de 81,48% et une VPP de 85,93% sur pièces de conisations. Bien qu'il n'y ait pas de corrélation histologique précise, le maintien de l'évaluation colposcopique paraissait être important, avec un souhait de gradation de la sévérité de l'aspect colposcopique des lésions visualisées, avec une tendance actuelle à la classification de ces anomalies en deux catégories (mineures ou majeures) et la volonté de localisation précise de ces anomalies dictant les résultats histologiques à la biopsie cervicale. Ainsi, l'étendue de ces anomalies ne semblait pas être directement liée à la sévérité des anomalies histologiques confirmant un rôle surtout localisateur de la colposcopie des lésions les plus sévères afin de diriger les biopsies cervicales. Mais, nous ne disposons pas du nombre de biopsies réalisées lors de chaque procédure avec des différences de pratiques selon les opérateurs : une donnée qui pouvait influencer les résultats histologiques. La colposcopie souffrait donc d'un faible taux de concordance intra et inter observateurs [86-89]. Nos données étaient en accord avec les résultats de Benedet [100], qui retrouvait chez un échantillon de 84244 patientes, une concordance entre impression colposcopique et cytologique à un degré près de 90%. La colposcopie surestimait la gravité lésionnelle et les résultats cytologiques avec 83,93% de colposcopies anormales. Mais, les performances de la colposcopie étaient d'autant meilleures que le degré de dysplasie évoqué au FCU était sévère. C'est la combinaison des deux examens frottis-colposcopie qui permettait une optimisation des résultats diagnostiques. La concordance colpo-histologique était elle notée dans 57 à 84% des patientes selon la littérature. Pour Massad et Collins [85], la concordance entre impression colposcopique et résultat histologique à la biopsie était exacte dans seulement 37% des cas et à un degré près, dans 75% des cas.

La recherche d'HPV oncogènes a été réalisée chez 27,53% des patientes. Mais il était à noter une hétérogénéité en termes de tests utilisés. La recherche a été effectuée dans la majorité des cas par Test Hybrid Capture II® de Digene qui détectait un ensemble de virus HPV, 5 types

de HPV-BR et 13 types de HPV-HR retrouvés dans la quasi-totalité des néoplasies intra-épithéliales sévères et cancers, expliquant le fort taux de positivité (88,07%), avec une majorité de positivité à l'HPV 16 (soit 71,56%). Comme nous l'avons développé auparavant, l'infection persistante aux HPV oncogènes était clairement associée à la carcinogénèse cervicale avec comme agent majeur l'HPV16. Dans notre étude, cette recherche d'HPV était principalement réalisée en cas de frottis ASC-US ou d'antécédents de dysplasie cervicale chez la patiente. En cas de frottis ASC-US, un typage HPV était parfois demandé.

Concernant l'évaluation histologique par biopsie cervicale, nous retrouvions 83,69% de lésions de haut grade. Ce qui était important à noter, c'était le nombre important de CIN2 ayant eu une conisation. 44,62% des conisations étaient réalisées pour les CIN2. L'examen histologique final sur pièce de conisation retrouvait, quant à lui, 76,51% de lésions de haut grade, mais également 16,42% de conisation sans atypies, soit une conisation sur 6.

En ce qui concernait la corrélation de l'examen histologique sur biopsie cervicale et l'examen histologique sur pièce de conisation, on retrouvait parmi les biopsies CIN3, une grande majorité de conisation concordantes avec 88,89% de CIN3 ou plus, 6,20% de CIN2, et seulement 1,55% de bas grade. Pour ce qui était des biopsies CIN2, les résultats histologiques à la conisation étaient beaucoup plus disparates, avec une importante sous-évaluation histologique puisque, parmi elles, il y avait 53,10% de CIN3 et seulement 31,08% de lésions concordantes de CIN2. Cette confrontation des résultats histologiques permettait de calculer un coefficient de concordance kappa de 0.4378, ce qui correspondait à une concordance modérée. Nos résultats étaient proches de ceux de la littérature [94-107]. Néanmoins, cette concordance était très bonne pour ce qui était des lésions de haut grade, et faiblissait pour ce qui était des lésions de bas grade avec des taux élevés de positivité.

Castle [53] a comparé les CIN2 à un groupe de lésions hétérogènes et non une simple étape évolutive de CIN1 vers une CIN3. Comme nous l'avons dit, 43% d'entre elles étaient vouées à la régression. Le diagnostic histologique de CIN2 était donc difficile et son interprétation délicate, car ces lésions pouvaient être bénignes ou correspondre à de véritables pré-cancers. C'est une entité qui regroupe, en réalité, de nombreuses situations différentes et près de 50% d'entre elles vont régresser sans traitement. Pour certains auteurs, il conviendrait donc de s'abstenir de traiter les CIN2 dites de bas risque, en appliquant une surveillance étroite tous les 6 mois pendant 2 ans, de manière à limiter les effets délétères des traitements. Et donc, de réserver le traitement par conisation aux situations de haut risque ou devant une persistance de CIN2.

Mais, nos résultats allaient plutôt à l'encontre de cette attitude et plaidaient en faveur d'un traitement par conisation de ces lésions de CIN2, au vu du taux de lésions de CIN2 sous-évalué puisque, plus d'un cas de CIN2 sur deux était sous-évalué à la biopsie et correspondait, en fait, à une lésion de CIN3 pour laquelle un traitement par conisation restait indiscutable.

L'autre problématique qui était à noter, était l'âge de diagnostic de ces lésions chez des patientes de plus en plus jeunes. Les objectifs actuels étaient donc de réduire le nombre de lésions traitées tout en conservant la sécurité carcinologique. Le choix du traitement devrait prendre en compte les risques obstétricaux encourus, mais également le risque de ne pas traiter une CIN2 et de voir s'aggraver la lésion et apparaître un cancer invasif. L'analyse de certains facteurs pourrait permettre de ne réserver le traitement qu'aux véritables lésions précancéreuses. Ainsi, la présence d'un frottis de haut grade, d'une impression colposcopique avec anomalies majeures, d'un test HPV initial positif avec typage HPV retrouvant de l'ADN à HPV16, de la persistance de HSIL aux frottis de contrôle, ainsi que de la détection de la protéine p16INK4a étaient autant d'éléments nous poussant à un traitement de ces lésions de CIN2. Actuellement, en France, les méthodes de résections (conisation) étaient habituelles. Mais, ce traitement devrait prendre en compte le désir de grossesse de la patiente avec des méthodes de destructions (vaporisation laser ou cryothérapie) qui pouvaient être acceptées sous couvert d'un suivi régulier, lorsqu'il s'agissait de lésions de petites tailles, de siège uniquement exocervicale, totalement visible à la coloscopie.

L'importance de ce groupe confortait la nécessité de trouver des marqueurs histologiques permettant de préciser le diagnostic. L'autre moyen était aussi d'augmenter la concordance des examens pré conisations permettant de ne traiter que les véritables lésions de haut grade.

Ainsi, l'un des biomarqueurs utilisé pour augmenter cette concordance était la protéine p16INK4a. De nombreuses publications rapportaient la présence d'une surexpression de la protéine p16INK4a en immunohistochimie, dans une très forte proportion de néoplasies intra-épithéliales de haut grade (80 à 100% des CIN2 et quasiment toutes les CIN3), et dans presque tous les cancers invasifs du col utérin, avec une expression diffuse sur toute la hauteur de l'épithélium malpighien [112-113]. La surexpression de la protéine p16INK4a pouvait donc être considérée comme un marqueur indirect de l'activité des oncoprotéines virales des HPV à haut risque.

Dans notre étude, lorsque l'examen anatomopathologique de la pièce de conisation retrouvait une dysplasie de haut grade, le marquage de la protéine p16INK4a était positif dans 99,02%

des CIN2 et dans 100% des CIN3. Ce qui lui conférait une excellente sensibilité de 99,29%, une bonne valeur prédictive positive de 90,91% et plaidait fortement en faveur d'une bonne valeur diagnostique des dysplasies cervicales de haut grade du col utérin, de l'immuno-marquage de la protéine p16INK4a. Ce qui nuancait son intérêt, était sa faible spécificité de 23%, et sa valeur prédictive négative de 54%, posant trop souvent un diagnostic plus sévère que le résultat histologique sur conisation. En effet, dans les études sur le sujet, la surexpression de la protéine p16INK4a a également été mise en évidence dans une proportion variable de lésions intra-épithéliales de bas grade (CIN1), de l'ordre de 30 à 60 % en général affaiblissant sa spécificité diagnostique [118]. Dans ce cas, l'expression était limitée aux couches basales de l'épithélium malpighien. C'est également parmi les CIN1 que les résultats étaient les plus disparates sur biopsies cervicales, avec un marquage de la protéine p16INK4a diffus dans 61%, focal dans 21%, sporadique dans 4%, sporadique et négatif dans 14%, selon l'étude de Mulvany [119]. Par ailleurs, celui-ci ne notait pas de réelle corrélation avec le typage HPV.

Lorsqu'on prenait uniquement en considération les patientes avec un marquage p16INK4a positif et que l'on évaluait la concordance diagnostique entre le résultat histologique sur biopsie cervicale et conisation, on retrouvait 86,84 % de concordance entre les lésions de haut grade (CIN3 ou plus). La sensibilité diagnostique était ainsi de 95,58% et la VPP de 84,41%, mais avec une spécificité plus basse de 22,59% et une VPN de 53,85%. Le coefficient de concordance kappa pondéré était égal à 0.3613 et avoisinait le coefficient de concordance histologique retrouvé, sans tenir compte de la positivité du marquage p16INK4a. Donc, nos résultats ne permettaient pas d'établir une nette amélioration de la concordance du diagnostic histologique avec l'utilisation de la p16INK4a par rapport à la coloration à l'hématoxyline-éosine [119]. Ceci était probablement expliqué par un fort taux de positivité dans les lésions de bas grade, avec des effectifs de marquage négatif très limités, rendant l'interprétation difficile. Ceci pouvait également être expliqué par le biais de recrutement qui sélectionnait d'emblée des patientes avec une forte suspicion de lésions de haut grade et donc, des taux importants de réponses positives au marquage p16INK4a.

Lorsqu'on s'intéressait aux cas particuliers des situations problématiques, les faibles effectifs des patientes limitaient l'interprétation des résultats. Pour ce qui était des cas de patientes présentant un frottis ASC-US et une biopsie CIN2, concernant la valeur diagnostique de la protéine p16INK4a, on ne retrouvait aucun marquage négatif avec près de 90% de marquage

positif dans le cas des dysplasies sévères. Dans le cas des patientes de moins de 30 ans avec, à la biopsie cervicale une CIN2, les résultats étaient également très bons, avec 88,68 % de haut grade. Nous reconnaissons donc une réelle tendance à l'association CIN2/p16INK4a positif en cas de dysplasies de haut grade. Néanmoins, nos résultats de part les faibles effectifs des groupes p16INK4a négatifs, ne nous permettaient pas de valider l'attitude d'un traitement systématique des patientes présentant cette association, mais ces données confirmaient notre sentiment de ne pas sur traiter les patientes dans ces situations-là. Ces résultats rejoignent, par contre, les récentes propositions qui consistaient à associer à l'interprétation du marquage p16INK4a un score nucléaire, ainsi que la recherche d'autres biomarqueurs tel que le Ki 67, devant la diversité des lésions de CIN2. En effet, comme nous l'avons développé, les lésions histologiques diagnostiquées comme CIN2 représentaient divers types de transformations de CIN1 à CIN3. Néanmoins, comme nous l'avons développé auparavant, la situation devait être analysée différemment chez les patientes très jeunes.

Ainsi, devant le risque de sur traitement des patientes porteuses de néoplasies intra-épithéliales de type 2, nous envisageons la réalisation d'un travail prospectif portant sur des patientes nulligestes présentant des lésions de CIN2 à la biopsie cervicale, afin de distinguer, sur des échantillons plus importants de patientes, des critères pronostiques forts décisionnels sur leur mode de prise en charge et d'affiner leur pronostic thérapeutique. Deux éléments nous paraissent importants et à prendre en compte : le marquage p16INK4a à la biopsie et l'identification de l'ADN à HPV16. Nous envisageons donc la comparaison de deux groupes distinctifs principaux : celui des patientes nulligestes CIN2 et p16INK4a positif à la biopsie avec recherche positive d'HPV16, et celui des patientes nulligestes CIN2 et p16INK4a négatifs à la biopsie avec recherche négative d'HPV16.

Enfin, en ce qui concernait le suivi à long terme des patientes, on retrouvait un taux global de 3,11% de sténoses, avec seulement 3 reprises chirurgicales pour levée de la sténose. Ce taux était conforme aux données de littérature. Il s'agissait pour toutes, de sténoses relatives avec douleur à l'écoulement des menstruations, non visualisation de la jonction squamo-cylindrique et absence de cellules endocervicales au frottis, levées le plus souvent par dilatation cervicale sous anesthésie locale. Nous ne retrouvions aucun cas de véritable sténose compliquée d'une hématométrie. Pour ce qui était des récurrences de dysplasies cervicales, on retrouvait un taux global de 11,19%. Ce taux de récurrence était à la limite supérieure des données de la littérature et pouvait être expliqué en partie, par la non distinction entre les

récidives après un an à proprement parlé et les persistances après traitement. L'autre élément était notre taux de résection en marges inférieures à 5 mm de 31,03%, soit près d'un tiers ; néanmoins, comme nous l'avons exposé, même en cas de CIN3, une marge de 3 mm était suffisante. Conformément aux données de la littérature, la confrontation des récidives de dysplasies aux anomalies initiales à la conisation ne retrouvait pas de lien statistiquement significatif. Le type d'anomalie initiale ne semblait pas intervenir dans le risque de récurrence. Ces récidives étaient majoritairement des anomalies cervicales de bas grade. Concernant la confrontation entre la technique de conisation utilisée et les complications de sténoses et de récidives de dysplasies, celle-ci ne retrouvait pas de différences statistiquement significatives, avec un peu plus de récidives pour l'anse de Fisher et un peu plus de sténoses pour les anses Erbé. La technique de conisation ne semblait donc pas influencer le risque de récurrence et l'indication était posée selon l'étendue et la localisation des anomalies cervicales constatées. D'autre part, nous ne disposons pas de la hauteur de cône de conisation qui représentait un autre élément important à prendre en compte dans le risque de récurrence de dysplasie. Il était également difficile de faire la différence entre une récurrence de dysplasie ou une persistance de celle-ci, car il n'était pas réalisé chez toutes les patientes, en post-conisation, un test HPV systématique détectant une infection persistante à HPV. Ces résultats renforçaient donc notre conviction d'une nécessité de surveillance rapprochée, au moins annuelle de toutes les patientes aux antécédents de néoplasies intra-épithéliales.

Ainsi, actuellement, la prise en charge des néoplasies intra-épithéliales cervicales était marquée par d'importantes évolutions. L'avènement du vaccin anti-HPV devrait inciter à une actualisation des recommandations de dépistage du cancer du col de l'utérus, surtout chez celles ayant bénéficié de cette vaccination, du fait de la modification de l'évolution de ces lésions de néoplasies intra-épithéliales cervicales.

Il était tout de même à noter que notre étude présentait l'un des principaux biais qu'était sa rétrospectivité. Néanmoins, elle avait comme avantage de s'être intéressée à une catégorie bien précise de patientes prises en charge pour néoplasies intra-épithéliales, celles fortement suspectes de lésions de haut grade. Ce qui limitait parfois l'interprétation de certains résultats du fait du mode de recrutement de nos patientes ; à savoir, uniquement celles traitées par conisation et non toutes les patientes prises en charge pour dysplasie cervicale.

VI. CONCLUSION

La pathologie cervicale semble concerner des femmes de plus en plus jeunes et pose de nombreux problèmes en raison des séquelles et effets délétères des traitements réalisés, mettant en danger le pronostic obstétrical de ces patientes. Il est donc essentiel de restreindre les traitements à la prévention secondaire du cancer du col et donc aux lésions à potentiel évolutif. Les difficultés décisionnelles touchent surtout les lésions de CIN2 dont le diagnostic histologique est difficile, c'est une entité qui regroupe en réalité de nombreuses situations différentes et dont près de 50% vont régresser sans traitement. Leur prise en charge doit s'efforcer de mieux caractériser leur pronostic afin d'y appliquer le traitement le plus adéquat. A ce jour les progrès dans la compréhension de la cancérogenèse cervicale associée à l'HPV ont permis de promouvoir l'évaluation des divers biomarqueurs qui pourraient améliorer les méthodes actuelles de dépistage et de diagnostic du cancer du col de l'utérus. La protéine p16INK4a inhibitrice de kinase cycline-dépendante est l'un des plus prometteurs et plus étudiés de ces biomarqueurs. L'immunocoloration de la protéine p16INK4a peut être facilement appliquée sur échantillons, cytologiques et histologiques. Toutefois, il n'y a pas de consensus général pour établir des valeurs seuil à partir desquelles un échantillon est "p16INK4a-positif". Des critères supplémentaires de discrimination, autre que la coloration anormale dans les cellules, pourrait augmenter sa spécificité. Pour son application en immunohistochimie, une évaluation prospective dans des situations cliniques particulières s'avère nécessaire pour une utilisation utile et efficace. Mais à long terme la détection de la protéine p16INK4a par immunocytochimie pourrait être utile dans le dépistage primaire du cancer du col, avec possibilité d'automatisation. Dans ce cadre, elle a montré une sensibilité comparable au test HPV seul et une meilleure spécificité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Schiffman M, Castle P. *The promise of global cervical-cancer prevention*. The New England Journal of Medicine, 2005; 353: 2101-2104.
2. Guizard AV, Trétarre B. *Col de l'utérus*. In: Francim H, Inserm, InVS, ed. Réseau français des registres de cancer, Hospices civils de Lyon, Inserm, Invs, eds Estimation de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1980 à 2005 Saint- Maurice, 2008.
3. Fernis DG, Litaker MS. *ASCUS/LSIL Triage Study (ALTS) Group. Colposcopy quality control by remote review of digitized colposcopic images*. Am J Obstet Gynecol 2004, Dec; 191(6): 1934-41.
4. Nucci MR, and Crum CP. *Redefining Early Cervical Neoplasia : Recent Progress*. Adv Anat Pathol 2007; 14: 1-10.
5. Curado EB, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M. *Cancer Incidence in Five Continents*. Lyon: IARC Scientific publications 2007.
6. Duport N - Institut de Veille Sanitaire. *Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. Etat des connaissances – Actualisation 2008*. Mai 2008.
7. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, et al. *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004*. Bethesda: National Cancer Institute; 2007.
8. Jemal A, Thomas A, Murray T, Thun M. *Cancer statistics, 2002*. CA: a cancer journal for clinicians, 2002 Jan-Feb; 52(1): 23-47.
9. Arbyn M, Raifu AO, Autier P, Ferlay J. *Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004*. Ann Oncol, 2007 Oct; 18(10): 1708-15.
10. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jouglu E, Benhamou E, De1afosse P, et al. *Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005*. Revue d'épidémiologie et de santé publique. 2008 Jun; 56(3): 159-75.
11. Institut de Veille Sanitaire. *Calendrier vaccinal 2009 selon l'avis du Haut conseil de la santé publique*. BEH n°16-17, avril 2009.

12. Remontet L, Esteve J, Bouvier AM, Grosclaude P, Launoy G, Menegoz F, et al. *Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000*. Revue d'épidémiologie et de santé publique, 2003 Feb; 51 (1 Pt 1): 3-30.
13. Shingleton HM, Bell MC, Fremgen A, Chmiel JS, Russell AH, Jones WB, et al. *Is there really a difference in survival of women with squamous cell carcinoma, adenocarcinoma, and adenosquamous cell carcinoma of the cervix?* Cancer. 1995 Nov 15; 76(10 Suppl): 1948-55.
14. Sancho--Garnier H. *Epidémiologie et dépistage des cancers du col utérin*. Rencontres nucléaire et santé. Neuilly, janvier 2008.
15. Franco E. L. and Harper D. M., *Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control*. Vaccine, 2005; 23(17-18): 2388-94.
16. *L'état de la population en France -Indicateurs associés à la loi relative à la politique de santé publique - Rapport 2007*. Institut national de Veille Sanitaire, 2007. Objectif 48.
17. Faught W. *Prise en charge du cancer spinocellulaire de la vulve*. J. Obstet. Gynecol. Can., 2006, 28 : 646-51.
18. Goldi SJ, Kohli M. Grima D et al. *Projected clinical benefits and cost effectiveness of a human papillomavirus 16/18 vaccine*. J. Natl. Cancer Inst., 2004; 96: 604-15, 15.
19. Green J. *Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives*. British Journal of Cancer, 2003; 88(11): 1713-20.
20. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM et al. *Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial*. Lancet, 2006; 367 : 1247-55.
21. Aubin F, Pretet JL, Mouglin C et al. *Infection à Papillomavirus humains*. Ann Dermatol Venereol, 2007, 134 : 94-9.
22. Coursaget P, Touze A. *Les vaccins contre les papillomavirus*. Virologie, 2006, 10: 353-68.
23. Monsonogo J. *Traité des infections et pathologies génitales à papillomavirus*. Éditions Springer, Paris, 2007.

24. Modis Y, Trus BL, Harrison SC. *Atomic model of the papillomavirus capsid*. The EMBO journal, 2002, 21(18): 4754-62.
25. Scheurer ME, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K. *Human papillomavirus infection: biology, epidemiology, and prevention*. Int J Gynecol Cancer, 2005; 15(5): 727-46.
26. Institut National de Veille Sanitaire. *Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. Etat des connaissances*. Actualisation 2008. Disponible sur : http://www.invs.sante.fr/publications/2008/cancer_col_uterus_2008/index.html.
27. Monsonogo J. *Infections à papillomavirus : état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale*. Éditions Springer, Paris, 2006.
28. Hantz S, Alain S, Denis F. *Vaccins prophylactiques antipapilomavirus : enjeux et perspectives*. Gynécologie Obstétrique et Fertilité, 2006 juillet-aout; 34(7-8): 647-655.
29. Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. *Groupe de travail sur la vaccination contre les papillomavirus*. Séance du 23 mars 2007. Disponible sur : http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/cshpf/r_mt_230307_papillomavirus.pdf.
30. Bourgault-Villada I. *Vaccination anti Papillomavirus Humain : principes et état d'avancement*. La Revue De Médecine, 2007 Jan; 28(1): 22-27.
31. Poolman EM, Elbasha EH, Galvani AP. *Vaccination and the evolutionary ecology of human papillomavirus*. Vaccine, 2008 Jul 18; 26 Suppl 3: C25-30.
32. <http://biologie.ens-lyon.fr> : *Oncogénèse médiée par les papillomavirus*. Janvier 2009.
33. Shafti-Keramat S, Handisurya A, Kriehuber E et al. *Different heparin sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses*. Journal of virology, 2003; 77(24): 13125-35.
34. Bousarghin L, Touzé A, Sizaret PY et al. *Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells*. Journal of virology, 2003; 77: 3846-50.
35. <http://biologie.ens-lyon.fr>: *Oncogénèse médiée par les papillomavirus*. Janvier 2009.
36. Steenbergen SD, De Wilde J, Wilting SM et al. *HPV-mediated transformation of the anogenital tract*. J. Clin. Virol., 2005; 32(S1): S25-33.

37. La rédaction. *Les Papillomavirus humains : beaucoup de troubles bénins, quelques cancers*. La Revue Prescrire. 2007 Fév; 27(280): 112-117.
38. Peigue-Lafeuille H. *Human papillomavirus vaccination: differing views and issues at stake*. Rev Med Interne, 2007 Déc; 28(12): 805-809.
39. Derancourt C. *Prophylaxie vaccinale de l'infection à papillomavirus humains*. Annales de Dermatologie et de Vénérologie, 2007 Nov; 134(11): 882-885.
40. La Torre G, de Waure C, Chiaradia G, Mannocci A, Ricciardi W. *HPV vaccine efficacy in preventing persistent cervical HPV infection: a systematic review and meta-analysis*. Vaccine, 2007 Déc 5; 25(50): 8352-8358.
41. Clifford GM, Gallus S, Herrero R et al. *Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis*. Lancet, 2005; 366: 991-8.
42. Munoz N, Mendez F, Posso H et al. *Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of colombian women with normal cytological results*. The Journal of Infectious Diseases, 2004; 190: 2077-2087.
43. Muñoz N, Manalastas R, Pitisuttithum P, Tresukosol D, Monsonego J, Ault K, et al. *Safety, immunogenicity, and efficacy of quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, 18) recombinant vaccine in women aged 24-45 years: a randomised, double-blind trial*. Lancet, 2009 Jun 6; 373(9679): 1949-1957.
44. Hantz S, Alain S, Denis F. *Vaccins prophylactiques antipapillomavirus : enjeux et perspectives*. Gynécologie Obstétrique et Fertilité, 2006 juillet-août; 34(7-8): 647-65.
45. Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, et al. *Epidemiologie classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer*. New England journal of medicine, 2003; 348(6): 518-27.
46. Rouzier R, Uzan C, Collinet P, et al. *Vaccination HPV: principes, résultats et perspectives*. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 2007; 36: 13-18.

47. Prétet J, Jacquard A, Carcopino X, Charlot J, Bouhour D, Kantelip B, et al. *Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in invasive cervical cancers in France: EDITH study*. Int. J. Cancer, 2008 Jan 15; 122(2): 428-432.
48. Prétet J, Jacquard A, Carcopino X, Monnier-Benoit S, Averous G, Soubeyrand B, et al. *Human papillomavirus genotype distribution in high grade cervical lesions (CIN 2/3) in France: EDITH study*. Int. J. Cancer, 2008 Jan 15; 122(2): 424-427.
49. Jacquard A, Denis F, Prétet J, Aubin F, Pradat P, Riethmuller D. *Distribution des génotypes de papillomavirus humain (HPV) dans les lésions génitales en France : études EDITH*. BEH, 2009 juillet 7; 29: 313-317.
50. Richart RM. *A follow-up study of patients with cervical dysplasia*. Am J Obstet Gynecol, 1969; 105: 186-192.
51. Tranbaloc P. *Histoire naturelle des lésions précancéreuses du cancer du col utérin*. Gynecol Obstet Fert, 2008; 36: 650-655.
52. Ostor AG. *Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review*. Int J Gynecol Pathol 1993, 12(2): 186-92.
53. Castle PE, Stoler MH, Solomon D, Schiffman M for the ALTS group. *The relationship of community biopsy-diagnosed cervical intraepithelial neoplasia grade 2 to the quality control pathology-reviewer diagnoses*. Am J Clin Pathol, 2007;127: 805-815.
54. Castle PE, SchiffmanM, Wheel CM, Solomon D. *Evidence for frequency regression of cervical intraepithelial neoplasia-grade2*. Obstet Gynecol 2009; 113: 18-25.
55. Long HJ, Laack NNI, Gostout BS. *Prevention, diagnosis, and treatment of cervical cancer*. Mayo Clin. Proc, 2007 Déc; 82(12): 1566-1574.
56. Denis F, Hanz S, Alain S. *Clairance, persistance et récurrence de l'infection à Papillomavirus*. Gynecol Obstet Fert, 2008; 36 (4): 430-440.
57. HAS synthèse et recommandations. *État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus en France*. Juillet 2010.

58. Duport N, Haguenoer K, Ancelle-Park R, Bloch J – Institut de Veille Sanitaire. *Dépistage organisé du cancer du col de l'utérus – Evaluation épidémiologique des quatre départements "pilotes"*. Juin 2007.
59. Poolman EM, Elbasha EH, Galvani AP. *Vaccination and the evolutionary ecology of human papillomavirus*. *Vaccine*, 2008 Jul 18; 26 Suppl 3: C25-30.
60. Bourgault-Villada I. *Vaccination anti-Papillomavirus Humain : principes et état d'avancement*. *La Revue De Médecine*, 2007 Jan; 28(1): 22-27.
61. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, et al. *Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases*. *N. Engl. J. Med.* 2007 Mai 10; 356(19): 1928-1943.
62. FUTURE II. *Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent high-grade cervical lesions*. *N. Engl. J. Med.* 2007 Mai 10; 356(19):1915-1927.
63. FDA. Clinical Review - *Human Papillomavirus Quadrivalent (Types 6, 11, 16, 18) Vaccine, Recombinant*. 2008 Sep 11. Disponible sur : <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM04042>].
64. Ault KA. *Effect of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomised clinical trials*. *Lancet*, 2007 Jun 2; 369(9576): 1861-1868.
65. Chang Y, Brewer NT, Rinas AC, Schmitt K, Smith JS. *Evaluating the impact of human papillomavirus vaccines*. *Vaccine*, 2009 Jul 9; 27(32): 4355-4362.
66. Marchetta J. *Halte aux conisations*. *Gyn Obst Fert*, 2009; 37: 213-215.
67. INSEE 2011: Fécondité totale, fécondité selon le groupe d'âges de la mère et âge moyen des mères à l'accouchement.
68. Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskeva E. *Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis*. *Lancet* 2006.

69. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoons C, Raifu W, Paraskeva E. *Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia : meta-analysis*. BMJ, 2008; 337: a1284.
70. ANAES. *Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal*. Actualisation 2002. Disponible sur : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_469254/conduite-atenir-devant-un-frottis-anormal-du-col-de-l-uterus.
71. Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé. *La cytologie en phase liquide et le dépistage du VPH : De nouvelles solutions pour le dépistage du cancer du col de l'utérus*. 2008 Fév. Disponible sur: http://www.cadth.ca/media/pdf/333_LBC-Cervical-Cancer_Screenin_Research_Highlights_f.pdf.
72. Angstetra D, Tait T, Tan J, Symonds I. *Should liquid-based cytology be performed prior to colposcopy? A comparison of the accuracy, unsatisfactory rates and cost in a tertiary referral setting*. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2009 Dec; 49(6): 681-4.
73. Académie Nationale de Médecine. *Les vaccins des papillomavirus humains*. Leur place dans la prévention du cancer du col utérin. 2007 Déc 11. Disponible sur: http://www.academie-medecine.fr/UserFiles/File/begue_rapp_11dec_2008.doc.
74. Zuna RE, Sienko A, Lightfoot S, Gaiser M. *Cervical Smear Interpretations in Women with a Histologic Diagnosis of Severe Dysplasia*. Cancer Cytopathol, 2002; 96: 218-24.
75. Blanc B. *Le dépistage du cancer du col de l'utérus*. Éditions Springer, 2005.
76. Levêque J, Classe JM, Marret H et al. *Place du typage virale dans les anomalies cytologiques du col utérin*. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 2005, 34(5): 427-429.
77. Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgren K, et al. *Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer*. N. Engl. J. Med, 2007 Oct 18; 357(16): 1589-1597.

78. Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, Wheeler P, Sargent A, Stoykova B, et al. *HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomized controlled trial*. *Lancet Oncol*, 2009 Jul; 10(7): 672-682.
79. Mayrand M, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, et al. *Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer*. *N. Engl. J. Med.* 2007 Oct 18; 357(16): 1579-1588.
80. Riethmuller D, Levêque J. *Cervical cancer prevention in France: more Pap to screen more?* *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 2009 Mai; 38(3): 199-202.
81. Castle PE, Fetterman B, Poitras N, Lorey T, Shaber R, Kinney W. *Five-year experience of human papillomavirus DNA and Papanicolaou test cotesting*. *Obstet Gynecol*, 2009 Mar; 113(3): 595-600.
82. Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. *Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis*. *Obstet Gynecol*, 1998 Apr; 91(4): 626-31.
83. Olaniyan OB. *Validity of colposcopy in the diagnosis of early cervical neoplasia – a review*. *Afr J Reprod Health*, 2002 Dec; 6(3): 59-69.
84. Tuon FF, Bittencourt MS, Panichi MA, Pinto AP. *Sensibility and specificità of cytology and colposcopy exams with the histological evaluation of cervical intraepithelial lésions*. *Rev Assoc Med Bras*, 2002 Apr-Jun; 48 (2): 140-4.
85. Massad LS, Collins YC. *Strength of correlations between colposcopic impression and biopsy histology*. *Gynecol Oncol*, 2003 Jun; 89(3): 424-8.
86. Sideri M, Spolti N, Spinaci L, Sanvito F, Ribaldone R, Surico N, Bucchi L. *Interobserver variability of colposcopic interpretations and consistency with final histologic results*. *J Low Genit Tract Dis*. 2004 Jul; 8 (3):212-6.
87. The ASCUS-LSIL Triage study (ALTS) Group. *Result of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance*. *Am J Obstet. Gynecol* 2003, 188 (6): 1383-92.

88. The ASCUS-LSIL Triage study (ALTS) Group. *A randomized trial on the management of low grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations.* Am J Obstet Gynecol 2003, 188 (6): 1393-1400.
89. Ferris DG, Litaker MS ; ASCUS/LSIL Triage Study (ALTS) Group. *Colposcopy quality control by remote review of digitized colposcopic images.* Am J Obstet Gynecol 2004, Dec; 191(6): 1934-41.
90. Cantor SB, Cardenas-Turanzas M, Cox DD, Atkinson EN, Nogueras-Gonzales GM, Beck JR, Follen M, Benedet JL. *Accuracy of colposcopy in the diagnostic setting compared with the screening setting.* Obstet Gynecol. 2008 Jan; 111(1): 7-14.
91. Sellors JW, Nieminen P, Vesterinen E, Paavonen J. *Observer variability in the scoring of colpophotographs.* Obstet Gynecol, 2008 Jan; 111 (1): 7-14.
92. Hopman EH, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meyer CJ, Helmerhorst TJ. *Observer agreement on interpreting colposcopic images of CIN.* Gynecol Oncol. 1995 Aug; 58 (2): 206-9.
93. Ethirington IJ, Luesley DM, Shafi MI, Dunn J, Hiller L, Jordan JA. *Observer variability among colposcopists from the West Midlands region.* Br J Obstet Gynaeco, 1997 Dec; (104 (12): 1380-4.
94. Stoler MH, and Schiffman M. *Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations.* JAMA, 2001; 285: 1500-5.
95. McCluggage WG. *Inter and intra-observer variation in the histopathological reporting of intraepithelial lesions using a modified Bethesda grading system.* Br. J Obstet Gynaecol 1998,105: 206-10.
96. Ardahan M, Temel AB. *Visual inspection with acetic acid in cervical cancer screening.* Cancer Nurs. 2011 Mar-Apr; 34(2): 158-63.
97. Zuchna C, Hager M, Tringler B, Georgouloupoulos A, Ciresa-Koenig A, Volgger B, Widschwendter A, Staudach A. *Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen.* Am J Obstet Gynecol. 2010 Oct; 203(4): 321.e1-6.

98. Ismail SM. *Reporting cervical intra-epithelial neoplasia (CIN): Intra-and interpathologist variation and factors associated with disagreement.* Histopathology, 1990; 16: 371-6].
99. Hellberg D, Nilsson S, Valentin J. *Positive cervical smear with subsequent normal colposcopy and histology-frequency of CIN in a long-term follow-up.* Gynecol Oncol, 1994 May; 53 (2): 148-51.
100. Benedet JL, Maticic JP, Bertrand MA. *An analysis of 84244 patients from the british Columbia cytology-colposcopy program.* Gynecol Oncol, 2004 Jan; 92(1): 1127-34.
101. Adamopoulou M, Kalkani E, Charvalos E, Avgoustidis D, Haidopoulos D, Yapijakis C. *Comparison of cytology, colposcopy, HPV typing and biomarker analysis in cervical neoplasia.* Anticancer Res. 2009 Aug; 29(8): 3401-9.
102. Boulanger JC. *Démarche de qualité en colposcopie.* JTA 2001.
103. Higgins RV, Hall JB, McGee JA, Laurent S, Alvarez RD, Partridge EE. *Appraisal of the modalities used to evaluate an initial abnormal Papanicolaou smear.* Obstet Gynecol, 1994 Aug; 84(2): 174-8.
104. Pretorius RG. *Inappropriate gold standard bias in cervical cancer screening studies.* Int J Cancer, 2007; 121: 2218-2224.
105. García M, Mena G, Cáceres E, De Ruiz A. *Colpo-hystopathological correlation as quality index in colposcopy.* Ginecol. Obstet Mex. 2008 Oct; 76(10): 587-96.
106. Boonlikit S. *Correlation between Reid's colposcopic index and histologic results from colposcopically directed biopsy in differentiating high-grade from low-grade squamous intraepithelial lesion at Rajavithi Hospital.* J Med Assoc Thai. 2011 Mar; 94 Suppl 2: S59-65.
107. Baldauf JJ, Ritter J. *ANAES: review of the literature on the reproducibility of low grade lesions and of atypical cells of indeterminate significance (ASCUS). Decision trees on treating abnormal cervical smears. Clinical problems engendered by the diagnosis.* Ann Pathol, 1999; 19(5 Suppl): S82-4.
108. Zlatkov V, Slavchev B, Mikhova A. *Is the directed biopsy accurate?* Akush Ginekol (Sofia). 2003; 42(4): 17-20.

109. Siegler E, Bornstein J. *Loop electrosurgical excision procedures in Israel*. Gynecol Obstet Invest. 2011; 72(2): 85-9.
110. Zuchna C, Hager M, Tringler B, Georgouloupoulos A, Ciresa-Koenig A, Volgger B, Widschwendter A, Staudach A. *Diagnostic accuracy of guided cervical biopsies: a prospective multicenter study comparing the histopathology of simultaneous biopsy and cone specimen*. Am J Obstet Gynecol. 2010 Oct; 203(4):321.e1-6.
111. Nucci MR, and Crum CP. *Redefining Early Cervical Neoplasia: Recent Progress*. Adv Anat Pathol 2007; 14: 1-10.
112. Negri G. p16INK4a is a useful marker for the diagnostic of adenocarcinoma of the cervix uteri an its precursors: an immunohistochemical study with immunocytochemical correlations. Am J Surg Pathol 2003; 27: 187-93.
113. Wang SS, Trunk M, Schiffman M, Herrero R, Sherman ME, Burk RD, Hildesheim A, Bratti AM, Wright T, Rodriguez AC, Chen S, Reichert A, Von Knebel Doeberitz C, Ridder R, Von Knebel Doeberitz M.. *Validation of p16INK4a as a marker of oncogenic human papillomavirus infection in cervical biopsies from a population-based cohort in Costa Rica*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004; 13: 1355-60.
114. Ishikawa M. Overexpression of p16INK4a as an indicator for human papillomavirus oncogenic activity in cervical squamous neoplasia. Int J Gynecol Cancer 2006; 16: 347-353.
115. Klaes R. et al. *p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia*. Am J Surgical Pathol 2002; 26: 1389-99.
116. Sano T. et al. *Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions*. Am J Pathol 1998,153 :1741-8.
117. Von Knebel Doeberitz M. *New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections*. Eur J Cancer 2002; 38: 2229-42.

118. Regauer S, and Reich O. *CK17 and p16 expression patterns distinguish (atypical) immature squamous metaplasia from high-grade cervical intraepithelial (CINIII)*. *Hispathology* 2007; 50: 629-635.
119. Mulvany NJ, Allen DG, Wilson SM. *Diagnostic utility of p16INK4a: a reappraisal of its use in cervical biopsies*. *Pathology*. 2008 Jun;40(4):335-44.
120. Wicha MS, Liu S, Dontu G. *Cancer stem cells: An old idea – a paradigm shift*. *Cancer Res* 2006; 66: 1883–1890.
121. Mittal K. *Utility of proliferation-associated marker MIB-1 in evaluating lesions of the uterine cervix*. *Adv Anat Pathol* 1999; 6:177–85.].
122. Martens JE, Smedts F, van Muyden RC, et al. *Reserve cells in human uterine cervical epithelium are derived from Mullerian epithelium at midgestational age*. *Int J Gynecol Pathol* 2007; 26: 463–8.
123. Bulkman NW, Berkhof J, Bulk S, et al. *High-risk HPV typespecific clearance rates in cervical screening*. *Br J Cancer* 2007; 96: 1419–24.
124. Syrjanen K. *Mechanisms and predictors of high-risk human papillomavirus (HPV) clearance in the uterine cervix*. *Eur J Gynaecol Oncol* 2007; 28: 337–51.
125. Syrjanen KJ. *Spontaneous evolution of intraepithelial lesions according to the grade and type of the implicated human papilloma virus (HPV)*. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1996; 65: 45–53.
126. Zavada J, Kurosaki T, Manetta A, Berman ML, Disaia PJ, Stanbridge EJ. *A study of biomarkers in cervical carcinoma and clinical correlation of the novel biomarker MN*. *Gynecol Oncol* 1996; 63: 37– 44.
127. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, Glass AG, Cadell DM, Rush BB, Scott DR, Sherman ME, Kurman RJ, Wacholder S. *Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia*. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 958–64.
128. Klaes R, Friedrich T, Spitkovsky D, Ridder R, Rudy W, Ulrich Petry U, Dallenbach-Hellweg G, Schmidt D, and Magnus Von Knebel doerberitz. *Overexpression of*

- p16INK4A as a specific marker for dysplastic epithelial cells of the cervix uteri. Int. J. Cancer 2001; 92:276–284.*
- 129.** Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, Trunk MJ, Keller T, Ridder R, for the European CINtec histology study group. *Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. Am J Clin Pathol 2010; 13 (3): p395-406.*
 - 130.** Del Pino M, Garcia S, Fusté V, Immaculada Alonso I, Aureli Torné, MD, Jaume Ordi. *Value of p16INK4a as a marker of progression/regression in cervical intraepithelial neoplasia grade 1. Am J Obstet Gynecol 2009; 201: p488.e1-7.*
 - 131.** Omori M, Hashi A, Nakazawa K, Yuminamochi T, Yamane T, Hirata S, Katoh R, and Hoshi. K. *Estimation of Prognoses for Cervical Intraepithelial Neoplasia 2 by p16INK4a Immunoexpression and High-Risk HPV In Situ Hybridization Signal Types. Am J Clin Pathol 2007; 128: 208-217.*
 - 132.** Guedes AC, Brenna SM, Coelho SA, Martinez EZ, Syrjänen KJ, Zeferino LC. *p16 (INK4a) Expression does not predict the outcome of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. Int J Gynecol Cancer. 2007 Sep-Oct;17(5):1099-103.*
 - 133.** Castle PE, Stoler MH, Solomon D, Schiffman M. *The relationship of community biopsy-diagnosed cervical intraepithelial neoplasia grade 2 to the quality control pathology-reviewed diagnoses: an ALTS report. Am J Clin Pathol. 2007 May; 127(5): 805-15.*
 - 134.** Hariri J, Oster A. *The negative predictive value of p16INK4a to assess the outcome of cervical intraepithelial neoplasia 1 in the uterine cervix. Int J Gynecol Pathol 2007; 26: 223–8.*
 - 135.** Negri G, Moretto G, Menia E, Vittadello F, Kasal K, Mian C, Egarter-Vigl E. *Immunocytochemistry of p16INK4a in liquid-based cervicovaginal specimens with modified Papanicolaou counterstaining. J Clin Pathol 2006; 59: p827–830.*
 - 136.** Denton KJ, Bergeron C, Klement P, Trunk MJ, Keller T, Ridder R; European CINtec Cytology Study Group. *The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. Am J Clin Pathol. 2010 Jul; 134 (1): 12-21.*

137. Sahebali et al. *Immunocytochemistry in liquid-based cervical cytology: analysis of clinical use following a cross-sectional study*. *Int. J. Cancer*, 2006; 118: 1254-1260.
138. Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A, Gillio-Tos A, De Marco L, Giorgi-Rossi P, Pontenani G, et al; New Technologies for Cervical Cancer Screening (NTCC) Working Group. *Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial*. *Lancet Oncol*. 2008 Oct; 9(10): 937-45.
139. Huang MZ, Li HB, Nie XM, Wu XY, Jiang XM. *An analysis on the combination expression of HPV L1 capsid protein and p16INK4a in cervical lesions*. *Diagn Cytopathol*. 2010 Aug; 38(8): 573-8.
140. Tsoumpou I, Arbyn M, Kyrgiou M, Wentzensen N, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Paraskevaidis E. *p16INK4a immunostaining in cytological and histological specimens from the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis*. *Cancer Treat Rev*. 2009 May; 35(3): 210–220.
141. Bergeron C, Wentzensen N, Cas. F, Magnus von Knebel Doeberitz M. *The p16INK4a protein: a cytological marker for detecting high grade intraepithelial neoplasia of the uterine cervix*. *Ann Pathol*. 2006 Oct; 26(5): 397-402.
142. Sigurdsson K, Sigvaldason H. *Is it rational to start population-based cervical cancer screening at or soon after age 20? Analysis of time trends in preinvasive and invasive diseases*. *Eur J Cancer* 2007; 43: 769-74.
143. Martin-Hirsch PL, Paraskevaidis E, Kitchenner H. *Surgery for cervical intraepithelial neoplasia (Cochrane review)*. The Cochrane library, Issue 3 Oxford: update Software 2002.
144. Soutter WP, Sasieni P, Panoskalasia T. *Long term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical cancer after neoplasia*. *Int J Cancer* 2006; 118: 2048-55.
145. Kalliala I, Anttila A, Pukkala E, Nieminen P. *Risk of cervical intraepithelial neoplasia: retrospective color study*. *BMJ* 2005; 331: 1183-5.

- 146.** Melnikow J, McGahan C, Sawaya G, Ehlen T, Colman A. *Cervical intraepithelial neoplasia outcome after treatment: long-term follow-up from British Columbia cohort study.* J Nat Cancer Inst 2009; 101: 721-8.
- 147.** Baloglu A, Uysal D, Bezircioglu I, Bicer M, Inci A. *Residual and recurrent disease rates following LEEP treatment in high-grade cervical intraepithelial lesions.* Arch Gynecol Obstet. 2010 Jul; 282(1):69-73.

TABLE DES ILLUSTRATIONS: FIGURES

Figure 1 – Incidence du cancer du col de l’utérus dans le monde d’après Globocan en 2002 [1].....	26
Figure 2 – Incidence et Mortalité du cancer du col de l’utérus dans les pays Européens d’après Globocan en 2002 [1].....	27
Figure 3 – Tendances chronologiques des taux d’incidence et de mortalité du cancer du col de l’utérus (cancer invasif et micro-invasif) en France (standardisation sur la population mondiale) [11].....	28
Figure 4 – Taux d’incidence et de mortalité par âge en 2005 (courbes transversales) en France – taux bruts [11].....	29
Figure 5 – Survie relative à 5 ans pour les différents stades du cancer du col de l’utérus (Classification FIGO) [14].....	30
Figure 6 – Evolution vers un cancer du col utérin à partir d’une infection à HPV [21].....	31
Figure 7 – Représentation schématique de la structure des Papillomavirus. [24].....	32
Figure 8 – Représentation schématique du génome des HPV 16 et 18 avec les rôles fonctionnels des protéines codées [25].....	32
Figure 9 - Devenir des virus HPV après pénétration dans les cellules basales de l’épithélium du col utérin [35-36].....	38
Figure 10 – Prévalence de l’infection à HPV dans le monde, tous âges et tous types de HPV confondus [41].....	40
Figure 11 – Prévalence spécifique par classe d’âge de l’ADN des HPV à haut risque oncogène chez 3700 femmes à leur entrée dans un programme de dépistage, et incidences spécifiques par classe d’âge du cancer du col de l’utérus aux Pays-Bas [42].....	41
Figure 12 – Prévalence mondiale des différents types d’HPV [45].....	42
Figure 13 – Schémas représentatifs du continuum de la carcinogénèse cervicale [51].....	44
Figure 14 – Risque relatif de cancer du col par type d’HPV toutes études IARC confondues [56].....	48
Figure 15 – Taux de couverture par FCU chez les femmes de 25 à 65 ans – Période 2003-2005 (Epib) [6].....	51
Figure 16 – Taux de couverture par FCU déclaré chez les femmes de 25 à 65 ans – Baromètre cancer 2005 [6].....	52
Figure 17 – De la découverte des HPV à la mise sur le marché du vaccin anti-papillomavirus selon Hantz [44].....	54

Figure 18 – A : cellules malpighiennes normales ; B : cellules glandulaires normales ; C : cellules malpighiennes comportant une zone périnucléaire optiquement vide bordée par une densification cytoplasmique et une augmentation modérée de la taille du noyau : koilocytes typiques [23].....	58
Figure 19 – Les différentes étapes du Test Hybrid Capture II® [74].....	63
Figure 20 – Les fonctions de la cellule normale sont régies par deux voies moléculaires clés, la cascade de la p53 et celle du rétinoblastome (Rb). La protéine du rétinoblastome exerce un rétrocontrôle négatif sur la division cellulaire par l'intermédiaire de la protéine p16INK4a, un inhibiteur des kinases cycline-dépendantes (CDK) 4 et 6 [112].....	82
Figure 21 – Dans les cellules infectées par le HPV-HR, l'oncoprotéine E7 dégrade le contrôle réalisé par pRb libérant E2F, la p16INK4a, qui dans une vaine tentative, tente de ralentir la production en aval d'E2F, qui est le moteur de prolifération de la cellule [112].....	83
Figure 22 – Modèles de coloration de lésions marquées comme (a) p16INK4a négatif, (b) p16INK4a positif sporadique, (c) p16INK4a positif focal ou (d) p16INK4a positif diffus [121].....	86
Figure 23 – Moyenne du nombre d'immunopositivité au MIB-1 et à la p16INK4a parmi les échantillons cytologiques (a) et les typages HPV (b) [126].....	98
Figure 24 – Evaluation de la répartition de a. l'âge et de b. la parité en fonction du résultat histologique sur pièces de conisations.....	136

TABLE DES ILLUSTRATIONS: TABLEAUX

Tableau 1 – Propriétés biologiques des protéines des papillomavirus à haut risque [23].....	33
Tableau 2 – Arbre phylogénique et Manifestations cliniques des principaux types d'HPV cutanés et muqueux [27].....	34
Tableau 3 – Classification des différents types d'HPV en fonction de leur pouvoir oncogène [29].....	35
Tableau 4 – Distribution des génotypes d'HPV dans les cancers invasifs du col de l'utérus (EDITH I), les néoplasies intra-épithéliales de haut grade (EDITH II) et les lésions de bas grade du col de l'utérus (EDITH III) [49].....	43
Tableau 5 – Classification des lésions cervicales selon les critères de l'OMS, de Richart, et de Bethesda [51].....	45
Tableau 6 – Evolution des CIN (Suivi de 2 à 7 ans) selon Ostor, 1993 : probabilités moyennes de régression, de persistance et d'évolution des CIN - Revue de la littérature portant sur 50 études [52].....	46
Tableau 7 – Sensibilité et Spécificité de la colposcopie dans la littérature (N = normal, aN=anormal, BG=lésion de bas grade, HG=lésion de haut grade, K=cancer) [81-82-83-84-85-86-87-88-89].....	69
Tableau 8 – Variabilité intra et inter observateur du diagnostic colposcopique dans la littérature [85-88-90-91-92].....	70
Tableau 9 – Evaluation de la concordance d'interprétation anatomopathologique en fonction du diagnostic cytologique [87].....	73
Tableau 10 – Concordances impression colposcopique / résultat histologique dans la littérature [84-88-98].....	75
Tableau 11 – Evaluation de la concordance inter-observateurs par valeur Kappa et leur intervalle de confiance concernant la corrélation des statuts diagnostiques à l'H&E et la protéine p16INK4a [108].....	90
Tableau 12 – Evaluation de la sensibilité diagnostique de l'association coloration à l'H&E et marquage p16INK4a par rapport à la coloration H&E seule, avec comme référence le diagnostic d'expert [122].....	91
Tableau 13 – Répartition des anomalies cytologiques pré-conisations.....	116
Tableau 14 – Répartition des anomalies colposcopiques selon la classification de la SFCPCV.....	116

Tableau 15 – Répartition des anomalies histologiques sur biopsies cervicales réalisées sous contrôle colposcopique.....	117
Tableau 16 – Répartition des anomalies histologiques sur pièces de conisations après coloration à l'hématoxyline-éosine.....	119
Tableau 17 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques et colposcopiques à l'origine des conisations.....	121
Tableau 18 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques à l'origine des conisations et histologiques sur biopsies cervicales.....	123
Tableau 19 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats cytologiques à l'origine des conisations et histologiques sur pièces de conisations.....	124
Tableau 20 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats colposcopiques à l'origine des conisations et histologiques sur biopsies cervicales.....	125
Tableau 21 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats colposcopiques à l'origine des conisations et histologiques sur pièces de conisations.....	126
Tableau 22 – Evaluation statistique de la relation liant l'étendue des anomalies colposcopiques et les résultats histologiques sur pièces de conisations.....	127
Tableau 23 – Evaluation de la répartition des résultats anatomopathologiques sur pièces de conisations chez les patientes sans visualisation de la jonction squamo-cylindrique.....	127
Tableau 24 – Evaluation statistique de la relation liant les résultats histologiques sur biopsies cervicales et sur pièces de conisations.....	129
Tableau 25 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a et les résultats histologiques sur biopsies cervicales.....	131
Tableau 26 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a et les résultats histologiques sur pièces de conisations après regroupement des dysplasies en lésions de bas grade ou sans atypie de et les lésions de haut grade.....	132
Tableau 27 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a sur biopsies et les résultats histologiques sur pièces de conisations, chez les patientes avec frottis ASC-US et biopsies CIN2.....	133
Tableau 28 – Evaluation statistique de la relation liant l'immunomarquage p16INK4a sur biopsies et les résultats histologiques sur pièces de conisations, chez les patientes de moins de 30 ans avec biopsies CIN2.....	134
Tableau 29 – Evaluation statistique chez les patientes avec immunomarquage positif de la p16INK4a sur biopsie de la relation liant les résultats histologiques sur biopsies cervicales et pièces de conisations.....	135

Tableau 30 – Evaluation statistique de la relation liant l’âge et la parité des patientes avec les résultats histologiques sur pièces de conisations.....	136
Tableau 31 – Evaluation statistique de la relation liant le type d’anomalie à l’antécédent de FCU anormal et les résultats histologiques sur pièces de conisations.....	137
Tableau 32 – Evaluation statistique de la relation liant le typage HPV et les résultats histologiques sur pièces de conisations.....	138
Tableau 33 – Evaluation des complications à distance des traitements par conisations.....	140
Tableau 34 –Caractéristiques du Frottis lors de la récurrence des néoplasies intra-épithéliales après conisations.....	142
Tableau 35 – Type de traitement de la récurrence de dysplasie cervicale.....	142
Tableau 36 – Relation liant le type d’anse diathermique utilisée à la conisation et le risque de complication à distance après conisation.....	143
Tableau 37 – Caractéristiques du dernier FCU après traitement par conisation des dysplasies cervicales.....	144
Tableau 38 – Relation entre la récurrence de dysplasie cervicale et le résultat histologique à la conisation.....	144
Tableau 39 – Tableau représentatif de la confrontation des résultats cytologiques, colposcopiques, virologiques, d’immunomarquage de la protéine p16INK4a, aux résultats histologiques à la biopsie cervicale.....	145
Tableau 40 – Tableau représentatif de la confrontation des résultats cytologiques, colposcopiques, virologiques, d’immunomarquage de lma p16INK4a, du suivi, confrontés aux résultats histologiques à la biopsie cervicale.....	146

TABLE DES ILLUSTRATIONS: ANNEXES

Annexe 1 – Classification FIGO des Cancers du Col Utérin.

Stade FIGO	Tumeur
<u>Stade 0</u>	<u>Tumeur intra-épithéliale (CIN)</u>
<u>Stade I</u>	<u>Tumeur limitée au col</u> Ia1 Invasion < 3mm en profondeur et < 7 mm en surface Ia2 Invasion entre 3 et 5 mm en profondeur et < 7 mm en surface Ib1 Lésion invasive du col > au stade Ia2 et < à 4 cm Ib2 Lésion invasive du col > 4 cm
<u>Stade II</u>	<u>Tumeur dépassant le col sans atteinte de la paroi pelvienne ou du 1/3 inférieur du vagin</u> IIa Avec atteinte du vagin proximal IIb Avec atteinte du paramètre
<u>Stade III</u>	<u>Tumeur étendue à la paroi pelvienne, au 1/3 inférieur du vagin ou comprimant l'uretère</u> IIIa Extension au 1/3 inférieur du vagin sans atteinte de la paroi pelvienne IIIb Extension à la paroi pelvienne et/ou retentissement rénal
<u>Stade IV</u>	<u>Tumeur étendue aux organes de voisinage</u> IVa Extension au rectum ou à la vessie IVb Métastases à distance au-delà du pelvis

Annexe 2 – Système de Bethesda.

Le système de Bethesda est également appelé TBS (*The Bethesda System*).

1. QUALITE DU PRELEVEMENT

- Satisfaisant pour évaluation
- Non satisfaisant pour évaluation (préciser la raison)

2. INTERPRETATION /RESULTAT

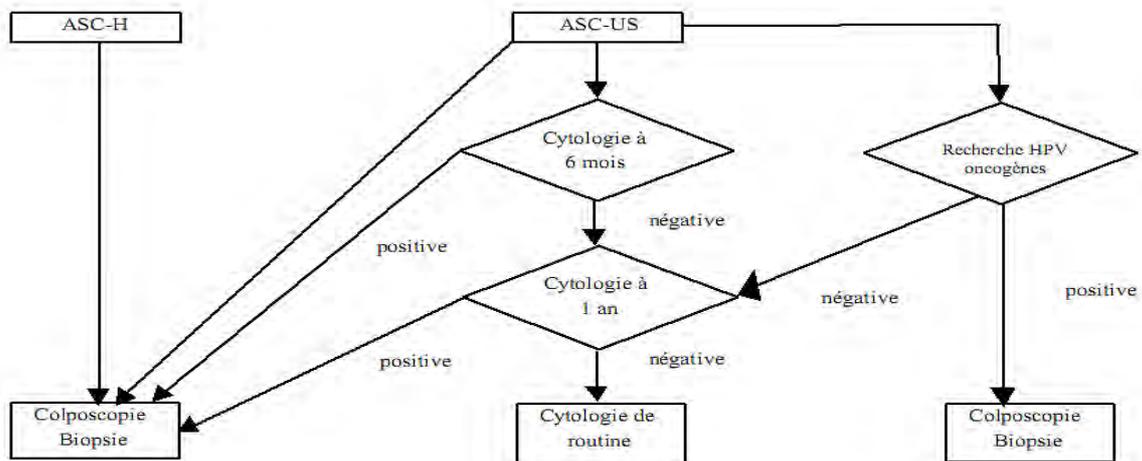
- Absence de lésion malpighienne intra-épithéliale ou de signe de malignité (frottis normaux, modifications non néoplasiques) (s'il y a lieu, préciser)
- Anomalies des cellules malpighiennes
 - ASC-US
 - ASC-H
 - LSIL
 - HSIL. Le cas échéant : présence d'éléments faisant suspecter une invasion
 - Carcinome épidermoïde
- Anomalies des cellules glandulaires
 - AGC endocervicales, endométriales ou sans autre précision
 - AGC en faveur d'une néoplasie : endocervicales ou sans autre précision
 - Adénocarcinome endocervical in situ
 - Adénocarcinome : endocol, endométrial, extra-utérin ou sans autre précision
- Autres
 - Cellules endométriales chez une femme âgée de 40 ans ou plus.

3. (PRECISIONS, NOTES ET RECOMMANDATIONS)

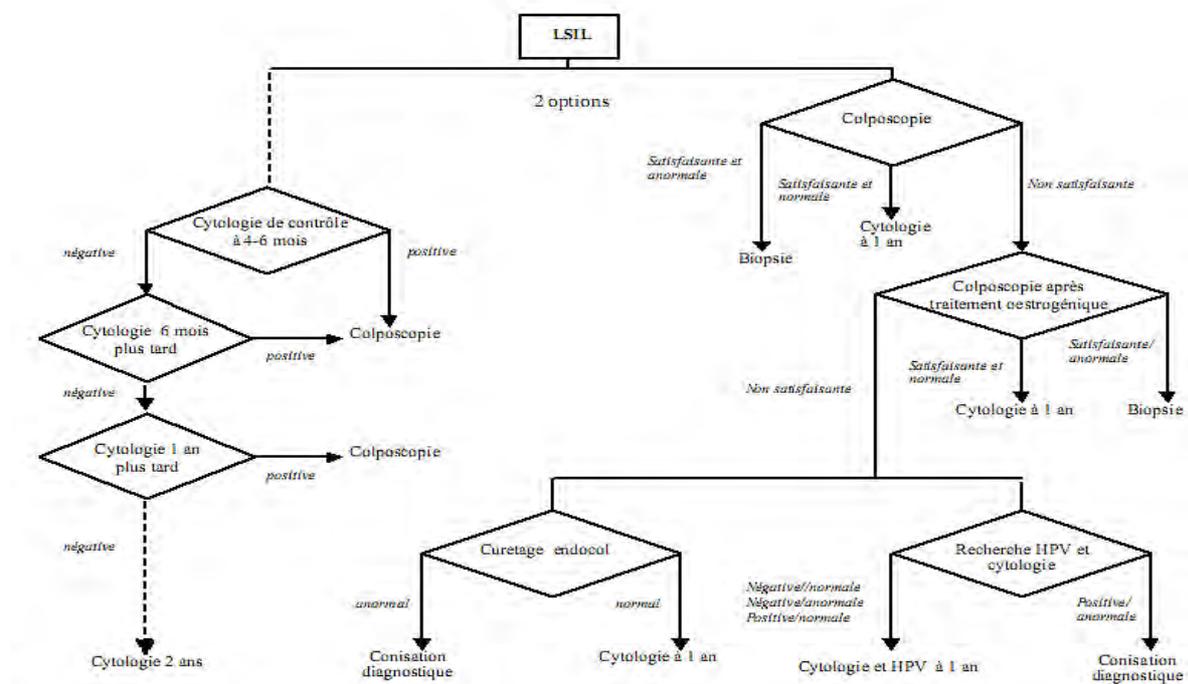
- Préciser si l'examen est automatisé et si la recherche des HPV a été réalisée.
- Notes et recommandations concises, formulées en termes de suggestions, et si possible accompagnées de références.

Annexe 3 – Conduite diagnostique en cas de frottis atypique selon l'ANAES 2002.

Conduite diagnostique en cas de frottis avec atypie des cellules malpighiennes :



Conduite diagnostique en cas de frottis avec lésion de type LSIL :



Annexe 4 – Questionnaire de recueil du suivi post conisation.

Nom et Prénom de la patiente (Liste préétablie pour chaque médecin).

Date de conisation à la Maternité Régionale de Nancy.

Information sur le suivi de la patiente

Sténose cervicale :

- Diagnostic de Sténose cervicale (oui/non).
- Délai après conisation du diagnostic de sténose cervicale (en mois).
- Traitement de la sténose cervicale (oui/non).
- Type de traitement de la Sténose cervicale (reprise chirurgicale sous AG ou dilatation cervicale sous AL).

Récidive de dysplasie cervicale :

- Diagnostic Récidive de dysplasie cervicale (oui/non).
- Délai après conisation du diagnostic Récidive de dysplasie cervicale (en mois).
- Type de Récidive de dysplasie cervicale au FCU (ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL, Carcinome épidermoïde, Autres).
- Traitement de la Récidive de dysplasie cervicale (oui/non).
- Type de traitement de la Récidive de dysplasie cervicale (Laser, électrocoagulation, conisation, hystérectomie).

Dernier Frottis cervico-utérin :

- Caractère du dernier FCU (ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL, Carcinome épidermoïde, Autres)
- Délai de recul après conisation du dernier FCU (en mois).

LISTE DES ABREVIATIONS UTILISEES

aN = anormal

ANAES = Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé

ALTS = ASCUS-LSIL Triage Study

ACS = American Cancer Society

ASC-H = Atypical squamous cells cannot exclude HSIL = cellules malpighiennes atypiques ne permettant pas d'exclure une HSIL

ASC-US = Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance = cellules malpighiennes atypiques de signification indéterminée

BEH = Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire

CIN = Néoplasie Intra-épithéliale Cervicale

CnamTS = Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés

CSC = carcinome spinocellulaire

EDITH = Etude de la Distribution des Types d'HPV

EGB = Echantillon généraliste des bénéficiaires

Epib = Échantillon permanent inter-régime des bénéficiaires

FCU = frottis cervico-utérin

FDA = Food and Drug Administration

HAS = Haute Autorité de Santé

HC2 = Hybrid Capture 2

H&E = Hématoxyline et Eosine

HPV = Human Papilloma Virus

HPV-BR = Human Palliloma Virus à bas risque

HPV-HR = Human Palliloma Virus à haut risque

HR-HPV = Heigh Risk HPV

HSIL = High grade Squamous Intraepithelial Lesion = lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade

IARC = International Agency for Research on Cancer

InVS = Institut de veille sanitaire

IST = infection sexuellement transmissible

K = Cancer du col utérin

LBC = liquide biologique de cytologie

LEEP = Loop electrosurgical excision procedure

LR-HPV = Low Risk HPV

LSIL = low grade squamous intraepithelial lesion = lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade

N = normal

PCR = Polymerase Chain Reaction

pRb = protéine du rétinoblastome

SFCPCV = Société Française de Colposcopie et de Pathologie Cervico-Vaginale

TAG 1 / 2 = Transformation Atypique de Grade 1 / 2

VIH = Virus Immunosuppresseur Humain

VLP = pseudo-particule virale

VU

NANCY, le 12 septembre 2011

Le Président de Thèse

Professeur P. JUDLIN

NANCY, le 13 septembre 2011

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur H. COUDANE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE 3741

NANCY, le 16/09/2011

**LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1
Par délégation**

Madame C. CAPDEVILLE-ATKINSON

RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS

TITLE

EVALUATION OF THE MANAGEMENT IN 396 PATIENTS WITH CERVICAL DYSPLASIA TREATED WITH CONIZATION

ABSTRACT

Faced with the rejuvenation of patients treated for intraepithelial neoplasia therapeutic decision problems arise. The aim of the study was to analyze the diagnostic value of cytology, colposcopy and histology pre-conization for high grade intraepithelial neoplasia, and the interest diagnosis of p16INK4a protein in histochemistry. This consisted of a retrospective study of 396 patients who underwent conization at the Regional Maternity of Nancy from 1 January 2007 to 31 December 2009. The data collection regarding the history of the patients, the cytology, colposcopic, virological and histological with immunolabeling of p16INK4a results, before conization, and the long-term monitoring. They were compared with histologic findings on definite parts of conization. This work allowed to mount a significant relationship between abnormalities of high grade dysplasia in cone biopsy and Pap HSIL ($p < 0.001$), a TAG2 to colposcopy ($p = 0.0048$), a CIN 2 or 3 at biopsy ($p < 0.001$), a marking p16INK4a positive ($p = 0.004$). The kappa coefficient of concordance between the histological samples at biopsies and cervical conization was 0.4378. In the subgroup of patients with positive staining for p16INK4a, this coefficient was 0.3613. We found at follow-up 3.11% of stenosis and 11.11% of recurrence without statistical relationship with the histological results in the cone biopsy, or with the technique used. These results confirmed the strong correlation of cyto-colpo-histology but with a significant disparity for CIN2, without significant improvement in the diagnostic concordance with the protein p16INK4a. Content risk of obstetric complications, it is essential to restrict the treatment of cervical lesions to those in evolutionary potential. Biomarkers such as p16INK4a protein can help in this selection, but improvements are needed.

KEY WORDS

High-grade cervical dysplasia – p16INK4a protein – Diagnostic value – Conization – Outcome

RESUME DE LA THESE

Face au rajeunissement des patientes prises en charges pour néoplasies intra-épithéliales des problè décision thérapeutiques se posent. L'objectif de l'étude a été d'analyser la valeur diagnostique des examens cytologiques, colposcopiques, et histologiques pré-conisation pour les néoplasies intra-épithéliales de haut grade, ainsi que l'intérêt diagnostique de la protéine p16INK4a en histochimie. Cela a consisté en une étude rétrospective incluant 396 patientes ayant eu une conisation à la Maternité Régionale de Nancy entre le 1er janvier 2007 et le 31 décembre 2009. Les données du recueil concernaient les antécédents des patientes, les résultats cytologiques, colposcopiques, virologiques et histologiques avec immuno-marquages de la p16INK4a pré-conisations, ainsi que le suivi à long terme. Ils ont été confrontés aux résultats histologiques définitifs sur pièces de conisations. Ce travail a permis de monter une relation significative entre les anomalies de dysplasie sévère à la conisation et un frottis HSIL ($p < 0,001$), un TAG2 à la colposcopie ($p = 0,0048$), une biopsie de type CIN2 ou 3 ($p < 0,001$), un marquage p16INK4a positif ($p = 0,004$). Le coefficient kappa de concordance histologique entre les prélèvements de biopsies et conisations cervicales était de 0,4378. Dans le sous groupe de patientes présentant un marquage positif à la p16INK4a, ce coefficient était de 0,3613. On retrouvait lors du suivi 3,11% de sténoses et 11,11% de récurrences sans lien statistique avec le résultat histologique à la conisation, ni avec la technique utilisée. Ces résultats confirmaient la forte corrélation cyto-colpo-histologique mais avec une disparité importante pour les CIN2, sans amélioration significative de la concordance diagnostique par la protéine p16INK4a. Contenu des risques de complications obstétricales, il est essentiel de restreindre le traitement des lésions cervicales à celles à potentiel évolutif. Des biomarqueurs tels que la protéine p16INK4a permettent d'aider à cette sélection, mais des améliorations sont nécessaires.

TITRE EN ANGLAIS

EVALUATION OF THE MANAGEMENT IN 396 PATIENTS WITH CERVICAL DYSPLASIA
TREATED WITH CONIZATION

THESE: MEDECINE SPECIALISEE- ANNEE 2011

MOTS CLES

Dysplasie cervicale de haut grade – Protéine p16INK4a – Valeur diagnostique – Conisation – Suivi

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY-1
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex