UNIVERSITÉ DE GENÈVE

Archive ouverte UNIGE
https://archive-ouverte.unige.ch

Thèse 2002

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

Dépistage cytologique du cancer du col de l'utérus par prélèvement en milieu liquide

Schwartz, Delphine

How to cite

SCHWARTZ, Delphine. Dépistage cytologique du cancer du col de l'utérus par prélèvement en milieu liquide. Doctoral Thesis, 2002. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:129

This publication URL: https://archive-ouverte.unige.ch/unige:129
Publication DOI: 10.13097/archive-ouverte/unige:129

© This document is protected by copyright. Please refer to copyright holder(s) for terms of use.

UNIVERSITE DE GENEVE

FACULTE DE MEDECINE

Section de médecine clinique

Département de gynécologie
et obstétrique

Thèse préparée sous la direction du Professeur Aldo Campana et du Docteur Pierre Vassilakos, Privat-Docent.

DEPISTAGE CYTOLOGIQUE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS PAR PRELEVEMENT EN MILIEU LIQUIDE

Thèse

Présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine

par

Delphine Schwartz

de

Bâle-Ville

Thèse n°10250

Genève

2002

Remerciements

Je remercie mon directeur de thèse, le **Professeur Aldo Campana**, de m'avoir donné l'opportunité de faire cette thèse dans de bonnes conditions et de m'avoir soutenue tout au long de ce travail.

J'aimerai remercier le **Docteur Pierre Vassilakos**, sans lequel cette thèse n'aurait pas vu le jour, de m'avoir transmis ses connaissances dans le domaine de la cytologie cervicale. Il m'a, également, transmis son intérêt et sa motivation pour accomplir ce travail.

Je remercie **Mme Floriane De Marval** pour l'informatisation des données et pour la réalisation de certains tableaux.

Un grand merci à **Alexandre** que j'ai dérangé de nombreuses fois et qui m'a aidé à effectuer la mise en page de façon correcte et lisible.

Finalement, un grand merci à **mes parents**, ainsi qu'à **Guillaume** et **nos fils** pour leur patience et leurs encouragements.
Ce travail est pour eux le témoignage de mon affection.

RESUME

Le frottis conventionnel a permis depuis 30 ans de diminuer de 50% la mortalité par cancer du col de l'utérus en Suisse.

Dans plusieurs pays industrialisés, ce cancer reste une réalité même chez les femmes régulièrement suivies. De la qualité très inégale des prélèvements dépend la sensibilité du dépistage. Plusieurs études indépendantes ont démontré que le prélèvement en milieu liquide, qui représente la nouvelle stratégie adoptée, permet l'obtention d'excellentes préparations cytologiques qui augmentent de façon significative le taux de détection des lésions intraépithéliales de bas et haut grade, en réduisant le taux de réponses ambiguës.

L'objectif de cette étude rétrospective est de vérifier si l'augmentation de la détection des lésions constatées est réelle. L'analyse du suivi histologique de 1218 cas cytologiques positifs démontre que statistiquement la méthode AutocytePrep a une meilleure corrélation du diagnostic cytologique et histologique par rapport au frottis conventionnel.

Elle apporte ainsi la preuve que l'amélioration de la détection n'est pas le résultat d'une surévaluation du diagnostic et qu'indirectement la nouvelle méthode est également plus spécifique.

DEPISTAGE CYTOLOGIQUE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

PAR PRELEVEMENT EN MILIEU LIQUIDE

TABLE DES MATIERES

I. INTRODUCTION 1

1. **Facteurs influençant la qualité de dépistage** 4

1.1. Les défauts d'échantillonnage 4
1.2. Les défauts de lecture 4
1.3. La proportion entre erreurs de lecture et erreurs d'échantillonnage 5

2. **Cytologie cervico-vaginale en milieu liquide** 6

II. NOMENCLATURE DES CLASSIFICATIONS DE L'EXAMEN CYTOLOGIQUE CERVICAL 9

1. **Le Système Bethesda** 9

III. BUT DE L'ETUDE 14

IV. MATERIEL ET METHODES 15

1. **Population étudiée** 15
2. **Récolte des échantillons cytologiques** 17
3. **Préparations en milieu liquide (AutocytePrep)** 18
4. **Examens histologiques** 18
5. **Evaluation des résultats cytologiques et histologiques** 19
6. **Analyses statistiques** 19

V. RESULTATS 20

VI. DISCUSSION ET CONCLUSION 29

VII. BIBLIOGRAPHIE 35

I. INTRODUCTION

Le dépistage du cancer du col utérin par screening systématique, à l'aide du frottis cervico-vaginal, a débuté dans les années cinquante et a prouvé, d'emblée, son efficacité dans les pays industrialisés en réduisant la mortalité par ce type de cancer de plus de 50%.

Néanmoins, cet outil de dépistage n'est pas parfait.

En effet, en Suisse, comme dans d'autres pays d'Europe et aux Etats-Unis, ce cancer reste non éradiqué et est une réalité même chez les femmes régulièrement suivies.

Dans notre pays, cette néoplasie tue encore une centaine de femmes par année (1) et, aux Etats-Unis, environ 5000 femmes, atteintes du cancer du col de l'utérus, décèdent annuellement (2).

Nous avons noté que, dans de nombreux pays, l'incidence du cancer invasif du col utérin reste stationnaire depuis plusieurs années et qu'elle est même en augmentation dans certains groupes d'âge (3).

En Suisse, une analyse rétrospective des cas de cancers invasifs du col a révélé que la majorité de ces cancers sont survenus chez les femmes âgées de plus de 65 ans. Ceci est expliqué par une surveillance moins intensive des contrôles cytologiques à partir de la ménopause (1).

D'autres études ont également montré que la majorité des décès par cancer du col survient chez les femmes qui n'ont pas effectué de frottis depuis plusieurs années (4,5).

Cependant, s'il est vrai que la couverture inadéquate de certains groupes de femmes est un fait réel, représentant un risque important pour le développement d'un cancer, le dépistage du cancer du col présente des défauts qui sont inhérents à la technique du prélèvement et qui peuvent conduire à un résultat faussement négatif. Ce sont principalement ces défauts qui seront analysés ultérieurement.

A Genève, il a été démontré que 14% des lésions précancéreuses de haut grade et cancéreuses invasives étaient précédées de frottis faussement négatifs à un intervalle de 28 mois (6). Pour ces mêmes lésions, on a rapporté un taux moyen de 20% aux Etats-Unis (7-13).

Nous estimons aujourd'hui qu'une femme sur quatre atteintes d'une lésion ASCUS[1], LSIL[2], HSIL[3], ou cancer invasif, aura un diagnostic cytologique faussement négatif (12).

Ces résultats ont des implications sérieuses : les femmes diagnostiquées avec un résultat faux-négatif vont peut-être développer la maladie sans avoir accès à un traitement adéquat ou vont recevoir un traitement tardif lourd de conséquences (morbidité, stérilité) (14).

---

[1] ASCUS : Atypical squamous cells of undetermined significance: « Atypies » des cellules pavimenteuses d'origine indéterminée.
[2] LSIL : Low grade squamous intraepithelial lesion: Lésion épidermoïde intra-épithéliale de bas grade.
[3] HSIL : High grade squamous intraepithelial lesion: Lésion épidermoïde intra-épithéliale de haut grade.
Pour définitions des lésions cf. chapitre II.

Il est cependant connu qu'en Suisse, 60% des femmes ont un rythme annuel de dépistage. Ainsi, l'imperfection inhérente à la technique du frottis conventionnel est, en partie, corrigée. Néanmoins, il apparaît clairement qu'il est nécessaire d'améliorer la qualité du prélèvement plutôt que de répéter des examens imparfaits. L'amélioration de la sensibilité du test permettra de limiter le dépistage aux femmes à risque et de réduire le surdépistage de certains groupes de femmes. C'est à cette condition que l'économie attendue pour la communauté sera substantielle et l'anxiété engendrée par des examens répétés inutiles sera en grande partie évitée.

La qualité du dépistage cytologique dépend donc de la méthode de prélèvements et d’un certain nombre de problèmes inhérents à la technique utilisée.

1. Facteurs influençant la qualité du dépistage

1.1. Les défauts d'échantillonnage

- Défauts de prélèvements: le prélèvement n'a pas été effectué dans la zone de jonction et on a manqué une lésion située en profondeur dans le canal cervical. Il est reconnu qu'un prélèvement correct est tributaire de la qualification de la personne qui le prélève et du type de dispositif de prélèvement qu'elle utilise (7).

- Défauts de transferts: il a été démontré que seulement 10-20% de la population cellulaire prélevée se trouve étalée sur la lame, le reste (>80%) étant jeté avec le dispositif. Dans une étude (15), la population cellulaire transférée avec succès sur la lame varie de 6,5% au pire et 62,5% au mieux. Dès lors, il est compréhensible que les cellules examinées ne soient pas représentatives de la collection cellulaire initiale. De plus, le mucus dans lequel sont retenues diverses populations cellulaires est une source importante de perte de cellules atypiques. Ainsi, la quantité de mucus jeté avec le dispositif peut influencer la représentativité cellulaire d'une lésion cancéreuse ou précancéreuse sur la lame (7,12,16).

1.2. Les défauts de lecture

Il s'agit de la non reconnaissance ou de la mauvaise interprétation de cellules atypiques considérées à tort comme normales. Ces erreurs sont imputées à l'observateur. Ici, l'expérience, la concentration et la fatigue sont des éléments-clés.

Néanmoins, le jugement de l'observateur peut être influencé par une préparation sous-optimale. En effet, les cellules atypiques sont souvent partiellement masquées par les cellules inflammatoires ou le sang, ou encore elles sont en mauvais état de fixation, rendant ainsi leur interprétation et leur classification morphologique problématiques. Il en résulte soit un faux diagnostic négatif, soit une réponse ambiguë (ASCUS/AGUS) qui génère la répétition de l'examen cytologique ou encore d'autres examens complémentaires (12).

1.3. La proportion entre erreurs de lecture et erreurs d'échantillonnage

Une étude a été entreprise à Genève, portant sur 136 cas de CIN II-III et de cancers invasifs ayant eu un diagnostic cytologique antérieur faussement négatif (intervalle de 18 mois).
Cette étude a démontré que deux tiers des faux-négatifs sont dus à des erreurs d'échantillonnage, c'est-à-dire que les cellules malignes n'étaient pas présentes dans la préparation cytologique, et qu'un tiers des faux-négatifs correspond à une erreur de lecture, due en majorité à un frottis sous-optimal (6).
D'autres études confirment également que les erreurs d'échantillonnage contribuent pour au moins 50% aux frottis faux-négatifs (15-21). Il est évident que ces erreurs d'échantillonnage ne peuvent être corrigées par aucun contrôle de qualité basé sur la relecture (12).

Depuis quelques années, nous assistons à l'introduction dans la routine de cytopathologie de nouvelles techniques visant à limiter les sources d'erreurs dues à l'échantillonnage.
Ainsi une nouvelle stratégie de dépistage a été adoptée, basée sur une modification du prélèvement et de sa préparation au laboratoire: **la cytologie en milieu liquide**.

2. Cytologie cervico-vaginale en milieu liquide

La nouvelle technologie a été introduite, pour la première fois en Suisse, en 1995 par Vassilakos et al. en utilisant la technique AutocytePrep (8). Deux ans plus tard, la technique ThinPrep a été également introduite. Le but des deux méthodes est d'améliorer la qualité et la représentativité du prélèvement, et, de ce fait, d'améliorer la sensibilité du test.

En effet, la cytologie en milieu liquide offre plusieurs avantages par rapport à la méthode traditionnelle.

La totalité du prélèvement est introduite dans un flacon avec un fixateur. On obtient ainsi un échantillon cervical beaucoup plus représentatif avec une préservation optimale des cellules.

Au laboratoire, on pratique un étalement en couche fine, qui représente la population cellulaire prélevée, tout en éliminant de la préparation les facteurs qui péjorent sa qualité (sang, inflammation, mauvaise fixation...)

Actuellement, plus de 50% des tests de dépistage en Suisse sont pratiqués par la cytologie en milieu liquide. Deux méthodes sont principalement utilisées. La méthode AutocytePrep (Tripath) et la méthode ThinPrep (Cytyc), toutes deux approuvées par la FDA comme alternative au frottis conventionnel.
La méthode AutocytePrep procède par centrifugation et enrichissement cellulaire à travers un gradient de densité, puis sédimentation sur une lame de microscope. Le liquide de conservation utilisé contient, en partie, de l'éthanol 24%.

La technique ThinPrep procède par filtration. La collection des cellules est pratiquée sous vide sur la membrane du filtre qui est mise en contact avec une lame de microscope. Le liquide de conservation utilisé contient, en partie, du méthanol 50%.
La différence des deux procédés concernant le liquide de conservation et la technique de préparation se traduit par une présentation morphologique cellulaire presque similaire au microscope.

Le mode de collection du matériel dans le milieu liquide de conservation est aussi différent entre les deux techniques. ThinPrep recommande seulement un rinçage vigoureux du dispositif, alors que AutocytePrep recommande de détacher le dispositif de prélèvement (brosse, spatule) et de le laisser dans le flacon durant tout le processus de préparation des lames, ce qui permet d'éviter toute perte de matériel.
Le mode de "rinçage-seul" du prélèvement peut avoir une conséquence sur la représentativité du matériel puisqu'il est préleveur-dépendant.
D'autre part, comme nous l'avons vu plus haut, 80% du matériel cellulaire est jeté avec le dispositif après avoir effectué un frottis conventionnel. Le bénéfice de l'homogénéité de la suspension des prélèvements dans sa totalité, qui représente l'avantage principal de la cytologie liquide, peut être compromis avec un rinçage partiel.

Pour l’instant, il y a très peu d'études comparatives qui prouvent qu’une technique de cytologie en milieu liquide est supérieure à l’autre.
Les cytopathologues basent leurs opinions sur l’expérience et ont un jugement personnel pour leur choix.
Récemment, Bolick a reporté des résultats dans une étude comparant le taux de faux-négatifs d'AutocytePrep, de ThinPrep, et du frottis conventionnel. Il a démontré que la fraction de faux-négatifs d'AutocytePrep est significativement plus basse que ThinPrep et que du frottis conventionnel (22).

La révision de la littérature prouve que les deux techniques sont supérieures aux frottis conventionnels (9,11,23,24). Ceci non seulement au niveau de la performance du diagnostic, en augmentant la sensibilité (25-27) et la spécificité (9,23,24,28) du dépistage, mais encore au niveau de la qualité du prélèvement, en réduisant les préparations sous-optimales et non satisfaisantes (9,11,29).

II. NOMENCLATURE DES CLASSIFICATIONS DE L'EXAMEN CYTOLOGIQUE CERVICAL

1. Le système Bethesda

En 1988, l'Institut National du Cancer a développé une nouvelle classification pour standardiser les rapports concernant la cytopathologie cervicale : le Système Bethesda (Tableau I).

Ce système offre une standardisation du lexique utilisé en cytopathologie cervicale et, surtout, offre une meilleure communication entre la cytologie et la clinique.

Il a été mis régulièrement à jour, selon l'évolution des connaissances dans le domaine cancérologique du col de l'utérus et selon les besoins des cliniciens et des cytopathologues (30).

L'idée générale retient trois éléments:

1) l'importance de la qualité du prélèvement pour l'évaluation diagnostique
2) une classification générale des diagnostics par catégories
3) un diagnostic descriptif (30).

Dans ce système, le compte-rendu conclusif comporte le diagnostic des lésions en tenant compte des antécédents et des renseignements cliniques. Il doit indiquer une des mentions "frottis ininterprétable" ou "interprétable" ou "dont l'interprétation est limitée par..". Ces trois catégories reposent sur des critères clairement définis (Tableau II) qui incluent l'appréciation de la cellularité, de l'inflammation, de l'hémorragie ou d'une cytolyse pouvant gêner l'analyse des cellules, mais aussi la qualité technique du prélèvement effectué par le clinicien (31).

Le processus d'évaluation de la qualité interne des frottis cervico-utérins peut jouer un rôle essentiel dans l'amélioration et la fiabilisation des performances diagnostiques. Il est indispensable à la mise en place d'un programme de dépistage organisé.

L'adoption du système de Bethesda par l'ensemble des partenaires devrait permettre une meilleure évaluation des méthodes de prélèvements, une amélioration de la qualité diagnostique, une aide au suivi des patientes et une bonne coopération médicale pour une meilleure efficacité en terme d'assurance qualité (32).

Dans une étude récente, S.E.Spires and al. ont montré que le système Bethesda présente des paramètres utiles avec une reproductibilité acceptable (33).

La comparaison de la classification de Bethesda par rapport aux autres systèmes de classification est présentée dans le tableau III.

Tableau I. Système de Bethesda.

1) Qualité de prélèvement

Frottis interprétable
Frottis interprétable mais limité par...
Frottis ininterprétable

2) Catégories

Dans les limites de la norme
Modifications cellulaires bénignes
Anomalies des cellules épithéliales

3) Diagnostic descriptif

Modifications cellulaires bénignes

- Infection (Trichomonas vaginalis, mycoses de type Candida, actinomycose, herpès, autres) -- Inflammation, atrophie, radiothérapie, DIU, autres.

Anomalies des cellules épithéliales malpighiennes

- Cellules malpighiennes atypiques de signification indéterminée (ASCUS)
- Lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade comprenant: lésion à HPV, dysplasie légère/CIN1,
- Lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade comprenant: dysplasie modérée et sévère, CIS/CIN2 et CIN3,
- Carcinome épidermoïde.

Anomalies des cellules épithéliales glandulaires

- Cellules endométriales, bénignes, de la femme ménopausée,
- Cellules glandulaires atypiques de signification indéterminée (AGUS),
- Adénocarcinome endocervical,
- Adénocarcinome endométrial,
- Adénocarcinome extra-utérin,
- Adénocarcinome.

Autres lésions malignes.

Tableau II. Qualité du prélèvement.

1) Frottis interprétable

Ceci inclut:

- étiquetage et une identification appropriés des prélèvements,
- des renseignements cliniques complets,
- un nombre suffisant de cellules épithéliales malpighiennes bien conservées et analysables couvrant plus de 10% de la surface de la lame (= interprétation technique),
- des éléments en nombre suffisant provenant de l'endocol ou de la zone de jonction (chez une patiente ayant un col utérin). Ceci signifie la présence au minimum de 2 amas de cellules bien conservées, endocervicales et/ou en métaplasie malpighienne, chaque amas étant composé, pour le moins de 5 cellules.

2) Frottis interprétable mais limité par

Ceci indique que l'échantillon offre des informations utiles. Cependant, son interprétation peut être compromise. L'échantillon est "satisfaisant, interprétable mais limité par" dans les conditions suivantes:

- absence de renseignements cliniques pertinents (âge et date des dernières règles au minimum, toute autre information clinique appropriée),
- une hémorragie, une inflammation, un étalement épais, une fixation insuffisante, des artéfacts de fixation, un contaminant qui empêche l'interprétation d'environ 50 à 75% des cellules épithéliales,
- l'absence de cellules endocervicaleset/ou de la zone de jonction (comme il a été défini précédemment).

3) Frottis ininterprétable

Ceci indique que l'échantillon n'est pas adapté à la détection d'anomalies épithéliales cervicales. Il est donc ininterprétable dans les conditions suivantes:

- absence d'identification du patient sur l'échantillon et/ou sur la feuille de demande d'examen,
- lame(s) techniquement inacceptable(s): lame(s) cassée(s) et ne pouvant être réparée(s),
- composante épithéliale malpighienne insuffisante (cellules épithéliales malpighiennes bien conservées et analysables couvrant moins de 10% de la surface de la lame),
- une hémorragie, une inflammation, un étalement épais, une fixation insuffisante, des artéfacts de fixation, un contaminant qui empêchent l'interprétation de 75% ou plus de cellules épithéliales.

Tableau III. Les différentes classifications cytologiques.

<table>
<tr><th>Classification System</th><th colspan="12">Cytology Classification</th></tr>
<tr><td>Munich</td><td rowspan="6">Normal</td><td>II Benign changes</td><td>III Atypia, dysplasia? carcinoma?</td><td colspan="3">IIID Mild and moderated Dysplasia</td><td colspan="3">IVa Severe Dysplasia or in situ Carcinoma, IVb Invasive Carcinoma?</td><td>V Invasive Carcinoma</td></tr>
<tr><td rowspan="2">The Bethesda System</td><td rowspan="2">Infection reactive repair</td><td rowspan="2">ASCUS</td><td colspan="6">Squamous Intraepithelial lesion (SIL)</td><td rowspan="6">Invasive Cacinoma</td></tr>
<tr><td colspan="2">Low Grade (LSIL)</td><td colspan="4">High Grade (HSIL)</td></tr>
<tr><td>UK</td><td></td><td>Borderline Changes</td><td colspan="2">HPV/Mild Dyskaryosis</td><td>Moderate Dyskaryosis</td><td colspan="3">Severe Dyskaryosis</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Richart</td><td colspan="2" rowspan="2"></td><td rowspan="2">Condy-loma</td><td colspan="5">Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)</td></tr>
<tr><td>Grade I</td><td>Grade II</td><td colspan="3">Grade III</td></tr>
<tr><td>Reagan (WHO)</td><td colspan="2">Atypia</td><td colspan="2">Mild Dysplasia</td><td>Moderate Dysplasia</td><td>Severe Dysplasia</td><td>In Situ Carcinoma</td></tr>
<tr><td>Papanicolaou</td><td>I</td><td colspan="2">II</td><td colspan="3">III</td><td colspan="2">IV</td><td>V</td></tr>
</table>

III. BUT DE L'ETUDE

Le but de notre étude est d'avoir un suivi histologique des lésions diagnostiquées comme ASCUS, LSIL, HSIL et carcinomes par la technique de cytologie en milieu liquide AutocytePrep. Seule la confirmation de ce diagnostic permet de conclure que l'amélioration de la détection des lésions intra-épithéliales observée est réelle et non secondaire à une surévaluation.

Nous utilisons l'histologie comme "gold standard", affirmant ou non la présence d'une lésion intra-épithéliale.

Par ailleurs, nous comparons les résultats trouvés par la cytologie en milieu liquide avec ceux trouvés par la méthode conventionnelle.

N.B: Par convention, nous utilisons le signe + lorsqu'il s'agit de grouper les lésions dans le texte ou dans un tableau.

Par exemple: ASCUS+ = ASCUS, LSIL, HSL, Carcinomes
LSIL+ = LSIL, HSIL, Carcinomes
HSIL+ = HSIL, Carcinomes

IV. MATERIEL ET METHODES

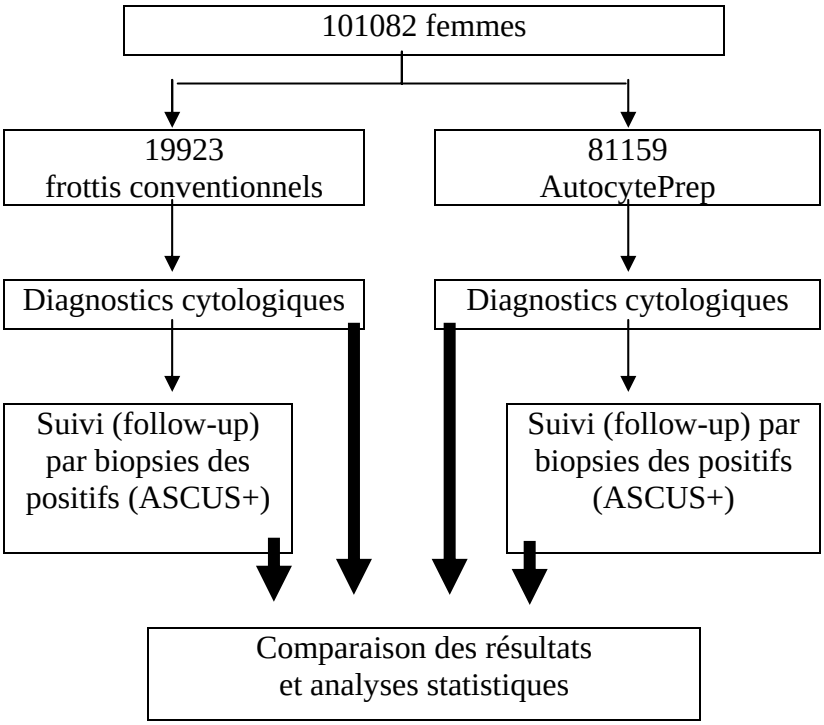
1. Population étudiée

Dans cette étude, 97 médecins ont participé pour un total de 101082 examens. La récolte des résultats a duré 12 mois, de septembre 1998 à septembre 1999. Sur ces 101082 cas, 19923 sont des examens par frottis conventionnels et 81159 sont des prélèvements en milieu liquide.

Tous les examens cytologiques ont été analysés et introduits dans une base de données.

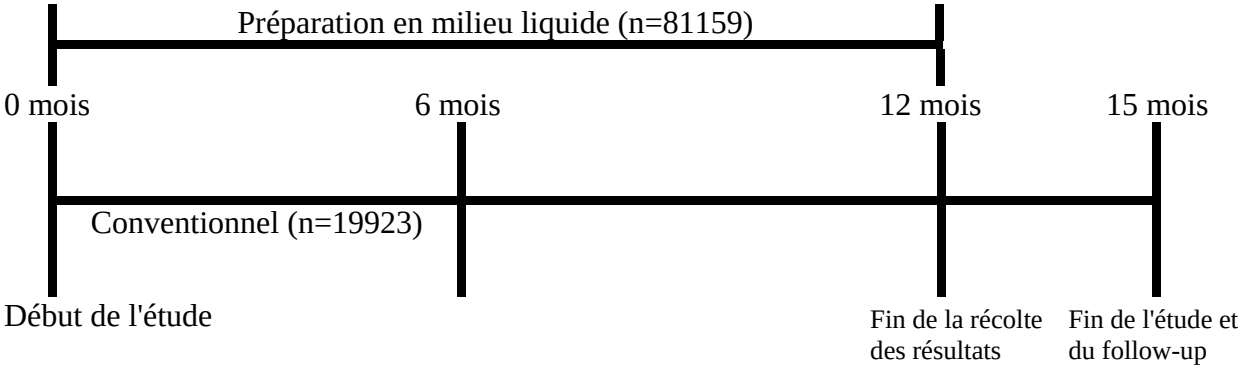
Les résultats positifs (ASCUS+) ont été suivis et, si un examen histologique a été pratiqué, celui-ci est également introduit dans la même base de données (Figure 1).

Figure 1. Population étudiée.



Pendant les six premiers mois de l'étude, les deux modes de prélèvement ont été utilisés. Par la suite, la routine cytologique utilisant les frottis conventionnels a été abandonnée et totalement remplacée par les prélèvements cytologiques en milieu liquide. C'est pourquoi les résultats par AutocytePrep sont récoltés sur une période de 12 mois et les résultats par frottis conventionnels sur 6 mois (Figure 2).

Figure 2. Suivi dans le temps de l'étude.



Par conséquent, le suivi histologique pour la population dépistée avec la méthode conventionnelle a plus de recul que celui pour la population dépistée par prélèvements en milieu liquide.

Tous les échantillons cytologiques et histologiques sont obtenus par des médecins de Genève et d'autres villes de Suisse Romande. Certains échantillons proviennent du Département de Gynécologie et d'Obstétrique de l'Hôpital Universitaire de Genève.

Toutes les patientes proviennent de la même région géographique. Les caractéristiques démographiques et les indications au screening sont comparables pour les deux populations. L'évaluation des âges des patientes montre une similitude entre les deux groupes.

La distribution de la maladie dans les deux populations est supposée être stable pendant la durée de l'étude.

2. Récolte des échantillons cytologiques

Pour les prélèvements conventionnels, 60% sont effectués à l'aide d'une spatule Ayre et Cytobrush et sont placés ensemble sur la même lame. Les 40% restants sont effectués avec la spatule Ayre uniquement.

Pour les prélèvements en milieu liquide, 80% sont effectués à l'aide de Cytoprep brush (Eschen, Liechtenstein), qui échantillonne simultanément l'exocol et l'endocol. Les 20% restants sont des frottis effectués avec Cervex-Brush associé au Cytobrush, chez des patientes avec une sténose cervicale où l'utilisation de Cytoprep se révèle impossible.

La tête de la brosse est coupée ou détachée du reste du dispositif et est directement immergée dans un flacon contenant un liquide de préservation à base d'alcool manufacturé par TriPath, Inc. Les brosses restent dans les flacons qui sont envoyés au laboratoire.

L'utilisation des différents dispositifs concernant les deux groupes n'a pas eu d'influence sur la performance du diagnostic puisque nous avons utilisé des dispositifs qui sont recommandés par les experts. En effet, ceux-ci recommandent, en ce qui concerne les frottis conventionnels, la spatule Ayre pour l'exocol et le Cytobrush pour l'endocol et, pour les prélèvements en milieu liquide, les dispositifs "broom-type" (34).

3. Préparations en milieu liquide (AutocytePrep)

Quand le flacon arrive au laboratoire, la plupart des globules rouges sont lysés et le mucus s'est liquéfié sous l'effet du produit de conservation. Les amas cellulaires sont désintégrés par agitation. La méthode AutocytePrep est ensuite utilisée: les échantillons subissent une centrifugation avec un gradient de sédimentation, ce qui diminue la quantité de débris, de fragments cellulaires et de neutrophiles. Le résultat est un dépôt cellulaire représentatif et distribué de façon homogène dans deux cercles séparés, de 13 mm de diamètre chacun. Le nombre moyen de cellules de chaque pastille est de 50 000 cellules environ. Les lames conventionnelles et AutocytePrep sont coloriées selon la méthode Papanicolaou.
Les deux cercles sont préparés avec deux dilutions différentes, afin d'avoir un contrôle de qualité.

4. Examens histologiques

La colposcopie avec biopsie ou excision LEEP est la procédure de routine pour la plupart des patientes présentant un examen cytologique pathologique. Les résultats histologiques obtenus par conisation, hystérectomie ou curetage sont également utilisés dans cette étude.

5. Evaluation des résultats cytologiques et histologiques

Toutes les lames de cette étude ont été lues et diagnostiquées par des cytotechnologistes au Centre de Cytologie et de Pathologie Clinique à Genève. Un programme d'entraînement a été mis en place avant la lecture des examens faits en milieu liquide.

Tous les cas positifs et/ou suspects sont relus par un cytotechnologiste senior et ensuite le cytopathologue donne le diagnostic final. Les lames sont classifiées selon le système de Bethesda.

Les résultats histologiques trouvés ont également été lus dans ce centre. Nous n'avons pas séparé les résultats trouvés selon les méthodes de prélèvements (biopsie, conisation, curetage, hystérectomie).

6. Analyses statistiques

Tous les diagnostics cytologiques et histologiques sont introduits dans une base de données (Microsoft Access). C'est à partir de celle-ci que les comparaisons et analyses statistiques des résultats sont obtenues.

V. RESULTATS

Le tableau IV montre la prévalence des ASCUS et SIL dépistés soit par les frottis conventionnels soit par la nouvelle technique en milieu liquide. Ce tableau inclut tous les cas de notre étude. Les résultats obtenus par AutocytePrep montrent une diminution significative (-45.7%) des résultats ASCUS, une augmentation concomitante des LSIL (+222%) et des HSIL+ (+66.7%) par rapport aux frottis conventionnels.

Tableau IV. Prévalence des diagnostics ASCUS+ avec la méthode conventionnelle versus AutocytePrep

Diagnostics cytologiques selon Bethesda	**Frottis conventionnels (n=19923)**		**AutocytePrep (n=81120)**	
Négatifs	18973	95.3%	76820	94.7%
ASCUS	697	3.5%	1541	1.9%
LSIL	183	0.9%	2352	2.9%
HSIL+	70	0.3%	446	0.5%
LSIL+	253	1.2%	2798	3.4%

Ces résultats ont été testés statistiquement, en utilisant le test chi-square, pour déterminer si la distribution des diagnostics histologiques est pareille pour les frottis conventionnels et pour les AutocytePrep. La valeur chi-square pour ce test est de 430. La *P*-value est moins de 0.001, on peut donc conclure qu'il existe des différences statistiques significatives entre les distributions.

Nous avons recensé 5289 prélèvements positifs par l'une ou l'autre méthode, sur les 101082 examens pratiqués. Sur ces 5289 cas, le follow-up a pu être effectué pour 1289 cas.

Le diagnostic positif d'ASCUS ou plus a été posé pour 994 patientes par la méthode AutocytePrep, et pour 224 patientes par la méthode conventionnelle.

Le tableau V montre les résultats histologiques disponibles (follow-up) pour les deux méthodes.

Tableau V. Suivi histologique des diagnostics cytologiques (ASCUS+) selon les deux méthodes.

	Méthode conventionnelle			**AutocytePrep**		
Diagnostics cytologiques selon Bethesda	**Total des cas diagnostiqués**	**Cas suivis**	**%**	**Total des cas diagnostiqués**	**Cas suivis**	**%**
ASCUS	697	51	7.3	1541	137	8.9
LSIL	183	111	60.6	2352	500	21.2
HSIL	70	62	88.5	446	357	80.0
Total	950	224	23.6	4339	994	22.9

Pour la méthode conventionnelle, sur 950 cas diagnostiqués positifs, 224 (23.6%) ont été suivis histologiquement.

Pour les 4339 prélèvements positifs en milieu liquide, 994 (22.9%) ont été suivis histologiquement.

Nous constatons que le pourcentage des cas suivis avec AutocytePrep après un diagnostic de LSIL est moins important qu'avec la méthode conventionnelle. Ceci s'explique par le recul plus important de la méthode conventionnelle (cf. figure 1).

La confirmation par histologie des diagnostics LSILs n'a pas pu être apportée pour tous les cas car il est connu que deux tiers des lésions de bas grade régressent sans traitement. Nombreux sont les médecins qui suivent les patientes par la cytologie seule. En cas de persistance cytologique de LSIL, certains médecins pratiquent un traitement local destructeur, d'autres font une colposcopie.

En ce qui concerne les lésions de haut grade, nous obtenons un follow-up de 80% qui est à considérer comme statistiquement satisfaisant.
Les raisons pour lesquelles la confrontation cyto-histologique n'a pas pu être faite pour tous les cas, sont qu'un certain nombre de pièces a été détérioré (LEEP, Laser) et que certaines patientes ont changé de médecins, ne nous permettant pas d'avoir les renseignements sur la nature de la lésion.

Sur les 994 patientes diagnostiquées par AutocytePrep, 357 ont une cytologie HSIL et 637 ont une cytologie LSIL ou ASCUS (Tableau V).

Sur les 224 cas par méthode conventionnelle, 162 ont une cytologie LSIL ou ASCUS et 62 ont une cytologie HSIL (Tableau V).

Les tableaux VI et VII présentent les résultats cytologiques des frottis conventionnels et d'AutocytePrep respectivement et les comparaisons avec les diagnostics histologiques pour chaque catégorie.

Selon les statistiques, on trouve des différences significatives pour les deux tableaux.

Tableau VI. Résultats positifs (ASCUS+) par **AutocytePrep** en relation avec les diagnostics histologiques.

	Diagnostics histologiques						
Diagnostics par AutocytePrep	**Négatifs**	**LSIL**	**HSIL**	**Adéno-carcinome in situ**	**Carcinome épidermoï-de invasif**	**Adéno-carcinome invasif**	**Total**
ASCUS	69	47	21	0	0	0	137 (14%)
LSIL	151	237	112	0	0	0	500 (50%)
HSIL	16	21	307	5	1	0	350 (35%)
Adénocarcinome in situ	0	0	0	2	0	0	2
Carcinome épidermoïde invasif	0	0	2	0	2	0	4
Adénocarcinome invasif	0	0	0	0	0	1	1
Total	236 (24%)	305 (31%)	442 (44%)	7	3	1	994

1%

1%

Tableau VII. Résultats positifs (ASCUS+) par **la méthode conventionnelle** en relation avec les diagnostics histologiques

	Diagnostics histologiques				
Diagnostics par méthode conventionnelle	**Négatifs**	**LSIL**	**HSIL**	**Carcinome épidermoïde invasif**	**Total**
ASCUS	35	12	4	0	51 (23%)
LSIL	39	43	29	0	111 (50%)
HSIL	10	6	44	2	62 (27%)
Carcinome épidermoïde invasif	0	0	0	0	0
Total	84 (38%)	61 (27%)	77 (34%)	2 (1%)	224

Sur les 357 cas HSIL+ diagnostiqués par cytologie en milieu liquide, 89.6% (320/357) sont confirmés à l'histologie comme étant HSIL+, 5.9% (21/357) sont des LSIL et seulement 4.5% (16/357) sont négatifs.

Ceci est à comparer avec les 62 cas HSIL pour les frottis conventionnels qui sont confirmés à l'histologie comme étant dans 46 cas des HSIL (74.2%), 9.7% sont des LSIL et 16.1% sont des négatifs.

On remarque que si la cytologie en milieu liquide détecte une lésion de haut grade, dans 89.6% l'histologie confirme ce résultat, alors qu'avec les frottis conventionnels, seuls 74.2% sont confirmés à l'histologie.

Pour la méthode en milieu liquide, on observe une fausse positivité de 4.5% alors qu'elle est de 16.1% pour les frottis conventionnels.

Pour AutocytePrep, sur les 137 cas d'ASCUS trouvés, l'histologie montre que 21 cas sont des HSIL (15.3%), 47 sont des LSIL (34.3%) et 69 sont négatifs (50.4%).

Pour les frottis conventionnels, sur les 51 ASCUS trouvés, 4 sont des HSIL (7.8%), 12 sont des LSIL (23.5%) et 35 sont négatifs (68.2%).
Il est à noter qu'avec la technique en milieu liquide, la détection des lésions de haut grade en cas de diagnostics ASCUS est supérieure qu'avec la méthode conventionnelle.

En ce qui concerne les LSIL AutocytePrep, on voit que 112 cas sur 500 (22.4%) sont des HSIL à l'histologie, 237 sont confirmés comme LSIL (47.4%), et 151 sont négatifs (30.2%).
Pour les frottis conventionnels, sur les 111 cas de LSIL, 29 sont des HSIL (26.1%), 43 sont des LSIL (38.7%) et 43 sont négatifs (38.7%).

Les diagnostics cytologiques pour les LSIL montrent des résultats similaires pour les deux méthodes.

Le tableau VIII présente une comparaison simultanée des corrélations cytologiques et histologiques pour les deux méthodes et pour des différents degrés de lésion. AutocytePrep montre statistiquement une meilleure corrélation cyto-histologique tendant ainsi à démontrer une meilleure spécificité.

Tableau VIII. Diagnostics cytologiques par la méthode conventionnelle versus AutocytePrep en relation avec les diagnostics histologiques.

		Diagnostics histologiques					
		Négatifs		**LSIL**		**HSIL+**	
Méthode cytologique	**Nombre de patients**	**Nombre**	**%**	**Nombre**	**%**	**Nombre**	**%**
ASCUS, conventionnel	51	35	68.6	12	23.5	4	7.8
ASCUS, AutocytePrep	137	69	50.3	47	34.3	21	15.3
LSIL, conventionnel	111	39	35.1	43	38.7	29	26.1
LSIL, AutocytePrep	500	151	30.2	237	47.4	112	22.4
HSIL+, conventionnel	62	10	16.1	6	9.7	46	74.2
HSIL+, AutocytePrep	357	16	4.5	21	5.9	320	89.6

Le tableau IX montre que le pourcentage de patientes avec une biopsie négative faite après un diagnostic cytologique de LSIL et plus est réduit de 31.1% grâce à la méthode AutocytePrep.

Pour les patientes avec un diagnostic de LSIL à l'histologie, on voit une augmentation de la détection de 6.4%, et pour les HSIL, on réalise une augmentation de la corrélation encore plus importante de 16.1%.

Tableau IX. Diagnostics cytologiques des LSIL+ en relation avec les diagnostics histologiques.

	Diagnostics histologiques						
Diagnostics cytologiques et méthode	**Nombre de patients**	**Négatifs**		**LSIL**		**HSIL+**	
LSIL+, Conventionnel	173	49	28.3%	49	28.3%	75	43.4%
LSIL+, AutocytePrep	857	167	19.5%	258	30.1%	432	50.4%
% changement avec AutocytePrep			-31.1%		+6.4%		+16.1%

En conclusion, on note une réduction des biopsies négatives et une augmentation des LSIL+ confirmés à l'histologie, pour la technique AutocytePrep en comparaison avec le frottis conventionnel.

VI. DISCUSSION ET CONCLUSION

Le but de la cytologie cervico-vaginale est de pratiquer le dépistage d'une population afin d'aider à identifier les patientes qui sont susceptibles d'avoir des lésions cervicales précoces et, donc, de recevoir un traitement curatif.
Si le diagnostic cytologique doit être aussi sensible que possible, sa spécificité est également importante. En effet, un diagnostic cytologique faussement positif peut conduire à un traitement excessif, ce qui augmente les coûts de la santé publique et engendre une angoisse injustifiée chez les patientes.

L'amélioration de la détection de la maladie par les techniques de cytologie en milieu liquide est de plus en plus évidente. Le nombre croissant de publications internationales sur ce sujet le démontre (9,11,23,24,35,36).

Dans notre étude de 101043 patients, les diagnostics cytologiques sont vérifiés par les diagnostics histologiques pour deux populations, une basée sur les frottis conventionnels, l'autre sur AutocytePrep.

Comme les études précédentes, nous avons montré, grâce à la technique AutocytePrep, une augmentation de la détection des lésions de bas grade mais également des lésions de haut grade (Tableau IV).

Il est dès lors, nécessaire d'évaluer histologiquement ces résultats afin d'estimer, de façon indirecte, la spécificité de la méthode. Ainsi, on peut vérifier s'il s'agit d'une réelle amélioration de la détection et non pas d'une surévaluation des diagnostics.

Cependant, il faut noter que l'histologie n'est pas un "gold standard" parfait. En effet, celle-ci comporte des faux-négatifs qui varient de 42% à 86% (37). En outre, il subsiste un problème d'interprétation des biopsies par le pathologue, essentiellement concernant les lésions de bas grade (38-41).
Ismail and al. (38) montrent que les interprétations des biopsies sont excellentes pour les lésions invasives, modérées pour les CIN 3 et médiocres pour les CIN 1 et CIN 2.

En pratiquant un étalement monocouche représentatif de la population cellulaire prélevée, tout en éliminant de la préparation les facteurs qui péjorent sa qualité (sang, inflammation, etc.), la lecture est plus sensible et plus facile. Ceci conduit à une réduction des réponses ambiguës et des faux diagnostics négatifs. Il s'ensuit une réduction des examens cliniques et anatomo-pathologiques inutiles ou encore des traitements tardifs coûteux parfois lourds de conséquences.
Enfin, grâce à l'association du diagnostic cytologique et de la détection des Papillomavirus oncogéniques à partir du même prélèvement, un suivi et un traitement plus appropriés peuvent être appliqués. Ainsi, un espacement de la fréquence du test peut être envisagé avec sécurité en cas de négativité.

Dans notre étude, la comparaison des résultats AutocytePrep montre une excellente corrélation cyto-histologique pour tous les degrés de lésions (ASCUS+).

Nos résultats montrent que le taux de biopsies confirmant une lésion LSIL+, diagnostiquée par AutocytePrep, est de 80.5%. Comparativement, avec les frottis conventionnels, la confirmation des lésions LSIL+ est de 71.7%.
De même, la confirmation des diagnostics HSIL+ trouvés par AutocytePrep est de 89.6%, alors qu'elle est de 72.4% pour les diagnostics par la méthode conventionnelle.

Il est également intéressant de noter que les diagnostics ASCUS trouvés par AutocytePrep sont plus prédictifs d'une lésion néoplasique que lorsque le diagnostic est posé par la méthode conventionnelle.

Ces résultats correspondent favorablement avec d'autres évaluations histologiques, récemment publiées, concernant l'autre méthode de prélèvement liquide employée en Suisse, ThinPrep (42,43,44,45,46).

Ces comparaisons de résultats relatifs à la littérature sont résumées dans les tableaux X, XI, XII**.**

Tableau X. Résultats LSIL+ selon la littérature.

		Diagnostics histologiques	
Auteurs	**Diagnostics cytologiques et méthode**	**Nombre de patients**	**Positifs (LSIL+) %**
Etude actuelle (thèse), 2000	LSIL+, **AutocytePrep**	857	80.5
Marino et al, 2001 (46)	LSIL+, AutocytePrep	228	73,5
Carpenter et al, 1999 (3)	LSIL+, ThinPrep	156	84.6
Strumpf et al, 1999 (43)	LSIL+, ThinPrep	598	83.2
Papillo et al, 1998 (23)	LSIL+, ThinPrep	140	80.7
Weintraub et al, 2000 (40)	LSIL+, ThinPrep	336	75.0
Diaz-Rosario et al, 1999 (41)	LSIL+, ThinPrep	848	74.3
Quddus et al, 1998 (42)	LSIL+, ThinPrep	295	71.8

Tableau XI. Résultats HSIL selon la littérature.

		Diagnostics histologiques	
Auteurs	**Diagnostics cytologiques et méthode**	**Nombre de patients**	**Positifs (HSIL+) %**
Etude actuelle (thèse), 2000	HSIL, **AutocytePrep**	350	89.4
Marino et al, 2001 (46)	HSIL, AutocytePrep	58	89,6
Papillo et al, 1998 (23)	HSIL, ThinPrep	44	93.2
Weintraub et al, 2000 (40)	HSIL, ThinPrep	150	86.6
Quddus et al, 1998 (42)	HSIL, ThinPrep	82	84.5
Strumpf et al, 1999 (43)	HSIL, ThinPrep	124	71.7
Diaz-Rosario et al, 1999 (41)	HSIL, ThinPrep	158	60.7

Tableau XIII. Résultats ASCUS+ selon la littérature.

		Diagnostics histologiques	
Auteurs	**Diagnostics cytologiques et méthode**	**Nombre de patients**	**Positifs (LSIL+)** %
Etude actuelle (thèse), 2000	ASCUS+, **AutocytePrep**	994	76.3
Weintraub et al, 2000 (40)	ASCUS+, ThinPrep	476	65.5

En conclusion, notre étude démontre que l'amélioration significative de la détection des lésions (LSIL et HSIL) par les prélèvements en milieu liquide selon la technique AutocytePrep est réelle et non pas le résultat d'une surévaluation des diagnostics.

VII. BIBLIOGRAPHIE

1) Ligue Suisse contre le cancer : Association suisse des registres des tumeurs : Cancer en Suisse. Faits et commentaires. 1998.
2) Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo A: Cancer statistics. 1998: 48, 6-29.
3) Larsen NS: Invasive cervical cancer rising in young white females. JNCI 1994, 86: 6-7.
4) Centers for disease control: cervical cancer control-Rhode Island. MMWR 1989, 38: 659-662.
5) Janerich DT, Hadjimichael O, Schwarz PE: The screening histories of women with invasive cervical cancer, Connecticut. Am. J. Public Health. 1995: 85, 791-794.
6) Vassilakos P: Management of suboptimal cytologic smears: Persistent inflammatory smears. Acta Cytol. 1998; 42: 1481.
7) Mcgoogan E, Reith A: Would monolayers provide more representative samples and improved preparations for cervical screening? Overview and evaluation of systems available. Acta Cytol. 1996; 40: 107-119.
8) Vassilakos P, Cossali D, Albe X, Hohener C, Puget: Efficacy of monolayer preparations for cervical cytology. Acta Cytol 1996; 40: 496-500.
9) Vassilakos P, Griffin S, Megevand E, Campana A: Cytorich liquid-based cervical cytologic test: Screening in a routine cytopathology service. Acta Cytol 1998; 42: 198-202.
10) Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Pleotis Howel L, McIntosh KM, Taylor DA, Sadeghi MH: Multicenter masked evaluation of Autocyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998; 42: 189-197.
11) Vassilakos P, Saurel J, Rondez R: Direct-to-vial use of the Autocyte PREP liquid-based preparation for cervical-vaginal specimens in three European laboratories. Acta Cytol 1998; 43: 65-68.

12) Vassilakos P, De Marval F, Muñoz M: Dépistage du cancer du col utérin. Les frottis faux-négatifs. Revue médicale de la Suisse romande 1997; 117: 597-601.

13) Koss LG: Cevical (Pap) smear: New directions. Cancer 1993; 71: 1406-1412.

14) Vassilakos P: European HPV clinical summit meeting. Greater protection against cervical cancer. 30th January, 1998. Vienna.

15) Hutchinson ML, Isenstein LM, Goodman A, Hurley AA, Douglas KL, Mui KK, Patten FW, Zahniser DJ: Homogeneous sampling accounts for the increased diagnostic accuracy using the Thinprep processor. Am.J.Clin.Pathol. 1994; 101: 215-219.

16) Sprenger E, Schwarzmann P, Kirkpatrick M, Fox W, Heinzerling RH, Geyer JW, Knesel EA: The false negative rate in cervical cytology: Comparison of monolayers to conventional smears. Acta Cytol 1996; 40: 81-89.

17) Creasman WT, Rutledge F: Carcinoma in situ of the cervix: An analysis of 861 patients. Obstet and gynecol 1972; 39: 373-380.

18) Morell ND, Taylor JR, Snyder RN, Ziel HK, Saltz A, Willie S: False-negative cytology rates in patients in whom invasive cervical cancer subsequently developed. Obstet and gynecol 1982; 60: 41-45.

19) Gay JD, Donaldson LD, Goellner JR: False-negative results in cervical cytologic studies. Acta Cytol 1985; 29:1043-1046.

20) Kristensen GB, Skyggebjerg KD, Holung B, Holm K, Hansen MK: Analysis of cervical smears obtained within three years of the diagnosis of invasive cervical cancer. Acta Cytol 1991; 35: 47-50.

21) Joste NE, Crum CP, Cibas ES: Cytologic/histologic correlation for quality control in cervicovaginal cytology: Experience with 1582 paired cases. Am J Clin Pathol 1995; 103: 32-34.

22) Bolick DR. Comparison of the False Negative Fraction in AutocytePreps, ThinPrep Pap Tests and Conventional Pap Smears. Acta Cytol. 2001; 45: 832.

23) Bolick DR, Hellman DJ: Laboratory implementation and efficacy assessment of the ThinPrep cervical cancer screening system. Acta Cytol 1998; 42: 209-213.

24) Papillo JL, Zarka MA, St.John TL: Evaluation of the ThinPrep Pap test in clinical practice: A seven-month, 16314-case experience in northern Vermont. Acta Cytol, 1998; 42: 203-208.

25) Wilbur DC, Facik MC, Rutkowsi MA, Mulford DK, Atkison KM: Cinical trials of the Cytorich specimen-preparation device for cervical cytology: Preliminary results. Acta Cytol 1997; 41: 24-29.

26) Hutchinson ML, Agarwal P, Denault T, Berger B, Cibas ES: A new look at cervical cytology: Thinprep multicenter trial results. Acta Cytol 1992; 36: 499-504.

27) Bishop JW: Comparison of the Cytorich system with conventional cervical cytology: Preliminary data on 2032cases from a clinical trial site. Acta Cytol 1997; 41: 15-23.

28) Dupree WB, Suprun HZ, Beckwith DG, Shane JJ, Lucente V: The promise and risk of a new technology. The Lehigh Valley Hospital's experience with liquid-based cervical cytology. Cancer Cytopathology 1998; 84: 202-207.

29) Lee KR, Ashfad R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL: Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, Thin-layer system for cervical cancer screening. Obstetrics and Gynecology 1997; 90: 278-284.

30) The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Acta Cytol 1993; 37: 115-123.

31) Ransdell JS, Davey DD, Zaleski S: Clinicopathologic correlation of unsatisfactory Papanicolaou smear. Cancer Cytopathology 1997; 81: 139-143.

32) Association française pour l'assurance de qualité en anatomie et cytologie pathologiques (AFAQAP). Recommandations pour l'évaluation de qualité interne des frottis de dépistage du cancer du col utérin en France dans les

structures d'anatomie et cytologie pathologiques. Revue française des laboratoires 1998; 299: 53-56.

33) Spires SE, Banks ER, Weeks JA, Banks HW, Davey DD: Assessment of cervicovaginal smear adequacy: The Bethesda system guidelines and reproductibility. Am.J.Clin.Pathol. 1994; 102: 354-359.

34) American Society of Cytopathology. Cervical Cytology Practice Guidelines. Acta Cytol. 2001; 45: 201-226.

35) Depree WB, Suprun HS, Beckwith DG, Shane JJ, Lucente V: The promise and risk of a new technology: The Lenigh Valley Hospital's experience with liquid-based cervical cytology. Cancer Cytopathology 1998; 84: 202-207.

36) Carpenter AB, Davey DD: ThinPrep Pap Test: Performance and biopsy follow-up in a university hospital. Cancer Cytopathology 1999; 87: 105-112.

37) McCord ML, Stovall TG, Summitt RL, Ling FW: Discrepancy of cervical cytology and colposcopic biopsy: Is cervical conization necessary? Obstet Gynecol 1991; 77: 715-719.

38) Ismail SM, Colclough AB, Dinnen JS, Eakins D, Evans DMD, Gradwell E, O'Sullivan JP, Summerell JM, Newcombe RG: Observer variation in histopathological diagnosis and grading of cervical intraepithelial neoplasia. BMJ 1989; 298: 707-710.

39) Robertson AJ, Anderson JM, Swanson Beck J, Burnett RA, Howatson SR, Lee FD, Lessells AM, McLaren KM, Moss SM, Simpson JG, Smith GD, Tavadia HB, Walker F: Observer variability in histopathological reporting of cervical biopsy specimens. J.Clin.Pathol 1989; 42: 231-238.

40) Al-Nafussi AI, Colquhoun MK: Mild cervical intraepithelial neoplasia (CIN 1): a histological overdiagnosis. Histopathology 1990; 17: 557-561.

41) Richart RM, Wright TC: Controversies in the management of low-grade cervical intraepithelial neoplasia. Cancer 1993; 71: 1413-1421.

42) Weintraub J, Morabia A: Efficacy of a liquid-based Thin Layer method for cervical cancer screening in a population with a low incidence of cervical cancer. Diagnostic Cythopathology. 2000; 22: 52-59.

43) Diaz-Rosario LA, Kabawat SE: Performance of a Fluid-Based, Thin-Layer Papanicolaou smear method in the clinical setting of an independent laboratory and an outpatient screening population in New England. Archives of Pathology and Laboratory Medicine. 1999; 123: 817-821.

44) Quddus MR, Xu B, Sung CJ, Boardman L, Launchlan SC: Cytohisto correlations support the observation of increased detection of squamous intraepithelial lesions by the ThinPrep process. Acta. Cytol. 1998; 42: 1243.

45) Strumpf KB, Piraino PS. Comparison of Cytology-Histology. Correlations between the ThinPrep Pap Test and Conventionnal Pap Smears. Acta Cytol. 1999; 43: 905.

46) Marino JF, Fremont-Smith M: Direct-to-Vial Experience with AutoCyte PREP in a Small New England Regional Cytology Practice. J Reprod Med. 2001; 46: 353-358.