

*COLLÈGE NATIONAL
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS
Président : Professeur F. Puech*

**EXTRAIT des
Mises à jour
en gynécologie médicale
Volume 2010**

Publié le 10 décembre 2010

—



*TRENTE-QUATRIÈMES JOURNÉES NATIONALES
Paris, 2010*

Le génotypage, à quoi cela sert-il vraiment ?

C. MUSZYNSKI ¹, C. PANNIER ², J. GONDRY ¹
(Amiens)

Résumé

Le génotypage permet de déterminer les différents types d'HPV associés aux lésions cervicales. Plusieurs tests sont actuellement disponibles sur le marché avec leurs avantages et inconvénients. Un des intérêts de ces techniques est d'approfondir nos connaissances sur l'épidémiologie du virus, sa distribution en fonction des lésions et des continents. Il existe également des données récentes de la littérature qui permettent d'estimer le potentiel carcinogène des différents génotypes, et donc d'évaluer le risque d'évolution des lésions précancéreuses du col en fonction des génotypes qui leur sont associés. Cependant, l'intégration des techniques de génotypage en pratique clinique quotidienne dans la prise en charge de la pathologie cervicale n'est à ce jour pas définie. Nous proposons des pistes pour l'intégration de ces techniques dans la prise en charge des néoplasies cervicales intraépithéliales.

Mots clés : HPV, génotypage, risque carcinogène, CIN

- 1 - CHU Amiens - Centre de gynécologie-obstétrique - 124 rue Camille Desmoulins - 80054 Amiens cedex 1
- 2 - CHU Amiens - Laboratoire de virologie - Avenue Laënnec - Salouel - 80054 Amiens cedex 1

Déclaration publique d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir d'intérêt direct ou indirect avec un organisme privé, industriel ou commercial en relation avec le sujet présenté.

INTRODUCTION

La place du test HPV en pathologie cervicovaginale fait l'objet d'études, notamment pour préciser sa place dans le dépistage des lésions précurseurs du cancer du col utérin. Actuellement, la détection du virus HPV est une des options de prise en charge des frottis ASC-US, et est recommandée par les sociétés savantes dans le suivi post-thérapeutique [1]. La technique semble dépasser les conclusions des grandes études ; en effet, alors que la place du test HPV n'est pas encore clairement définie, les praticiens sont confrontés à des résultats de génotypage (identification d'un génotype précis du virus). La possibilité de génotyper les HPV est un progrès technologique dont l'intérêt dans les démarches diagnostiques, voire thérapeutiques, mérite d'être discuté. Si nous connaissons le rôle indispensable de la persistance d'un HPV oncogène dans la physiopathologie du cancer du col, que savons-nous du potentiel évolutif des lésions cytologiques et/ou histologiques en fonction des différents types d'HPV ? Comment intégrer ces connaissances en pratique quotidienne ?

Après un rappel des différentes techniques de génotypage existantes et de l'épidémiologie mondiale du virus, nous tenterons de fournir des pistes de réflexion pour préciser l'apport éventuel du typage dans la prise en charge des lésions cervicales.

I. LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES DE GÉNOTYPAGE

Aujourd'hui, de nombreuses techniques sont à la disposition des laboratoires pour réaliser le typage (génotypage) des HPV. Celui-ci peut être « complet » (typage de nombreux HPV haut risque (HR) et bas risque (BR)), ou seulement « partiel » (typage de quelques HPV HR, par exemple 16 et 18, et détection des autres HR et parfois des BR).

Toutes les techniques permettant un génotypage complet sont précédées d'une étape d'amplification du génome (ADN) par PCR. Les régions choisies pour l'amplification doivent être i) suffisamment conservées à leurs 2 extrémités pour être reconnues par les amorces de PCR quel(s) que soi(en)t le(s) génotype(s) présent(s) (amorces dites « consensus »), mais aussi ii) suffisamment variables dans la région située entre ces extrémités pour permettre une différenciation entre les types.

L'ADN amplifié obtenu après la PCR (court fragment d'ADN double brin délimité par les amorces, reproduit à des millions d'exemplaires identiques, ou amplicons) peut ensuite être retravaillé pour le génotypage : soit hybridé sur différents supports (bandelette, lame, bille de polystyrène), soit séquencé.

I.a. Techniques reposant sur une hybridation des amplicons

Ce sont des techniques commercialisées, validées par un marquage « CE », qui comprennent des contrôles à différentes étapes de leur réalisation (ADN humain ou « contrôle cellulaire », témoin de la réaction de PCR ou « contrôle interne », contrôle de l'hybridation...). Elles permettent d'identifier le ou les HPV présents et donc de mettre en évidence les co-infections.

I.a.1. Hybridation sur bandelettes (LiPA Line Probe Assay)

Les amplicons sont issus d'une PCR consensus dans la région L1 (codant pour la protéine de capsid). Deux tests existent : le test INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics) utilisant les amorces SPF10 [2], et le test Linear Array HPV Genotyping (Roche Diagnostics) utilisant les amorces PGMY09/11 [3]. Les amplicons marqués sont hybridés avec des sondes fixées sur une bandelette de nitrocellulose. Après une réaction colorimétrique révélant la présence de bandes sur la bandelette, la lecture peut être automatisée, mais reste le plus souvent visuelle et donc soumise à interprétation.

Ces techniques sont également longues à réaliser. Le test INNO-LiPA identifie 28 génotypes HR et BR, le test Linear Array 37.

I.a.2. Hybridation sur lames (« microarrays » ou « puces à ADN »)

Les amplicons sont là aussi issus d'une PCR consensus dans la région L1 (Clart HPV de Genomica [4]), ou dans la région E1 (Papillocheck de Greiner) [5]. Marqués par la biotine (Genomica) ou par un composé fluorescent (Greiner) qui permettra leur révélation ultérieure, ils sont hybridés avec les sondes fixées (« spottées ») sur une lame de verre ou de plastique. En raison de la miniaturisation du système (plusieurs centaines de spots sur la lame pour Greiner), la lecture et l'interprétation sont automatisées (scanner). Ces systèmes identifient respectivement 35 ou 24 types différents d'HPV, avec une cadence satisfaisante, et pour un coût acceptable (compatible avec le prix du B en France).

I.a.3. Hybridation sur billes de polystyrène (système Luminex®) [6]

Après une PCR consensus dans L1 (amorces GP5+/6+), les amplicons biotinylés sont hybridés avec des sondes spécifiques de chaque HPV, elles-mêmes fixées sur des microbilles de polystyrène en suspension dans un fluide. Il existe également un type spécifique de bille (code couleur basé sur un gradient de fluorescence) par type d'HPV, ce qui permet aux différentes billes d'être reconnues lors de leur passage devant un laser (technologie de cytométrie en flux). Cette technique automatisée permet un débit important d'analyses, mais reste assez coûteuse.

I.b. Techniques de séquençage

Le séquençage du produit PCR (généralement choisi dans la région L1) peut être réalisé dans les laboratoires équipés d'un séquenceur (techniques « maison »). La séquence exacte des acides nucléiques amplifiés est déterminée puis soumise à une base de données (généralement sur Internet), qui réalise un alignement par rapport aux types d'HPV connus. Malheureusement, le séquençage ne met en évidence que le type majoritairement présent (ou le mieux amplifié par la PCR), et ne permet donc pas d'identifier les co-infections.

II. ÉPIDÉMIOLOGIE DE L'HPV

II.a. Les différentes classes d'HPV

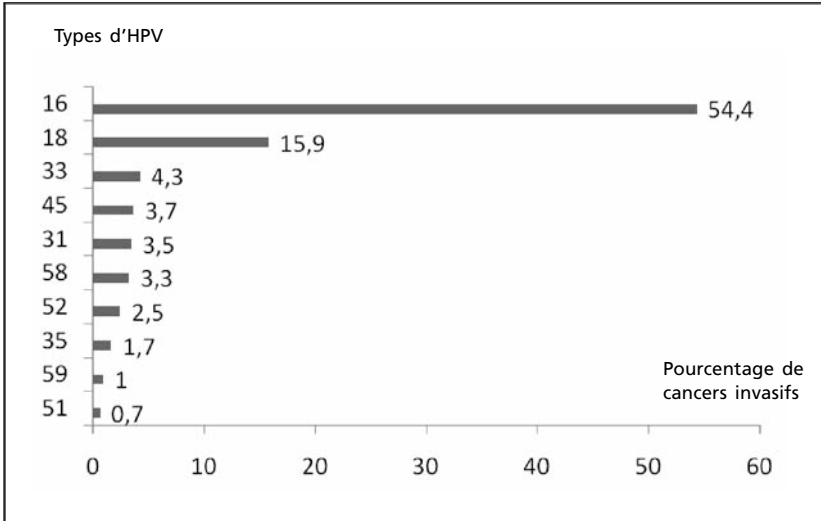
Les virus HPV qui infectent le tractus génital (une quarantaine identifiés à ce jour) sont des HPV mucotropes. Parmi ceux-ci, on différencie les HPV HR et les HPV BR. Les premiers sont indispensables au développement du cancer cervical alors que les seconds participent au développement de lésions bénignes comme les condylomes ou les néoplasies cervicales sans potentiel évolutif vers la malignité.

Pour plusieurs auteurs, les principaux virus à haut risque (HR) regroupent les HPV : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 [7, 8] et 68 [9]. Les principaux génotypes à bas risque sont les HPV 6, 11, 40, 42, 54, 61, 70, 72, 81 [7, 9]. Notons cependant que certains génotypes sont qualifiés « encore non classés » (HPV 55, 62, 64, 67, 69, 71, 83, 84) ou que les HPV 53 et 66 sont classés dans la catégorie bas risque par certains [8] et de « probablement à haut risque » par d'autres [10, 11]. Ceci n'est pas sans importance car on peut souligner que dans la série française, 43 % des frottis L-SIL sont associés à un de ces 2 types viraux [8].

II.b. Distribution des HPV dans le cancer invasif du col

La distribution des génotypes des virus en fonction des lésions retrouvées peut donner une indication sur le pouvoir oncogène de certains d'entre eux. D'après une méta-analyse portant sur près de 14 500 cas [12], les cancers du col dans le monde seraient associés dans 54 % des cas à HPV 16 et dans 15 % des cas à HPV 18. Par ordre de fréquence on retrouve ensuite les HPV 33, 45 et 31 à des taux nettement plus faibles. Des résultats similaires sont retrouvés par Munoz et Louie [13, 14] et sont résumés figure 1. Si les génotypes 16 et 18 représentent les deux principaux génotypes quels que soient les continents, il existe cependant des différences concernant la répartition des autres génotypes. Notons par exemple que l'HPV 58 est associé à presque 6 % des cancers (en 3^e position par ordre de fréquence) en Asie alors qu'il est associé à moins de 2 % des cancers du col sur les autres continents. De même, l'HPV 52 est associé à 4 % des cancers en Asie, 2,2 % en Amérique et moins de 1 % en Europe [14].

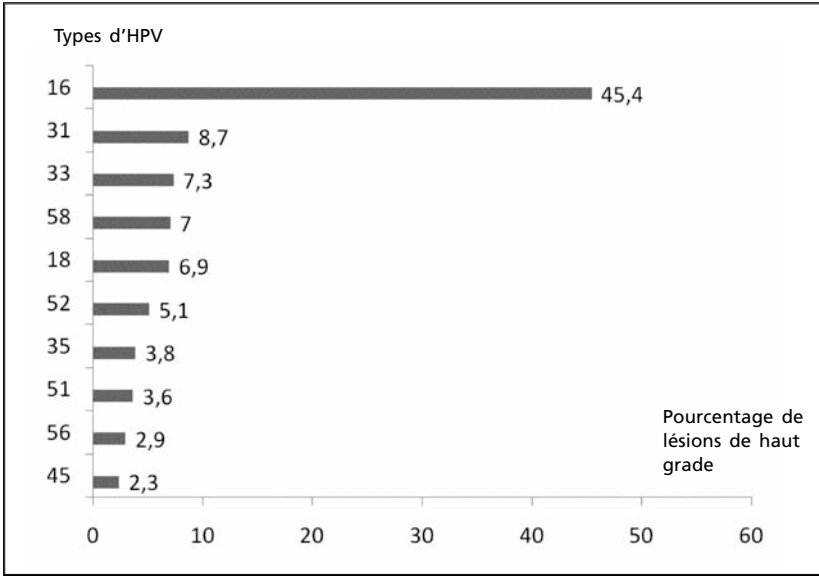
Figure 1 - Répartition des types d'HPV associés au cancer invasif du col au niveau mondial. D'après Louie et al. [14]



II.c. Distribution des HPV dans les lésions de haut grade

La très grande majorité des lésions de haut grade serait associée à au moins un HPV HR [7]. Smith *et al.* dans une méta-analyse de 2007 portant sur 7 094 lésions de haut grade (soit frottis HSIL, soit lésions de CIN2+) réparties dans le monde retrouvent une prédominance de l'HPV 16 (45 %) moindre que dans les cancers invasifs, suivi des génotypes 31, 33, 58, 18 chacun retrouvé dans environ 9 % des lésions [12]. Des résultats similaires sont retrouvés par Louie *et al.* et sont résumés figure 2 [14]. Le continent asiatique connaît une distribution quelque peu différente : l'HPV 16 est retrouvé dans moins de 40 % des lésions, suivi des génotypes 58 (12 %), 52 (8 %) et 18 (6 %) [12]. Si l'on compare au niveau mondial la distribution des HPV dans les cancers invasifs et dans les lésions de haut grade, les huit génotypes les plus communs sont les mêmes. En revanche, la répartition de chacun de ces huit génotypes par ordre de fréquence n'est pas la même dans les cancers que dans les lésions de haut grade. Les génotypes 16, 18 et 45 sont surreprésentés dans les cancers par rapport aux lésions de haut grade, alors que les autres génotypes sont sous-représentés. Ainsi ces données pourraient suggérer que le risque d'aggravation des lésions HSIL est variable selon le

Figure 2 - Distribution des génotypes d'HPV dans les lésions de haut grade. D'après [14]



génotype qui leur est associé, faisant des HPV 16, 18 et 45 des génotypes à fort potentiel carcinologique. Ces constatations sont appuyées par les études Edith 1 et 2 qui ont estimé la distribution des HPV dans la population française pour les cancers invasifs et pour les lésions de haut grade histologiquement prouvées [15, 16]. Les auteurs retrouvent également une nette surreprésentation des génotypes 16 et 18 dans les cancers invasifs comparés aux CIN2+.

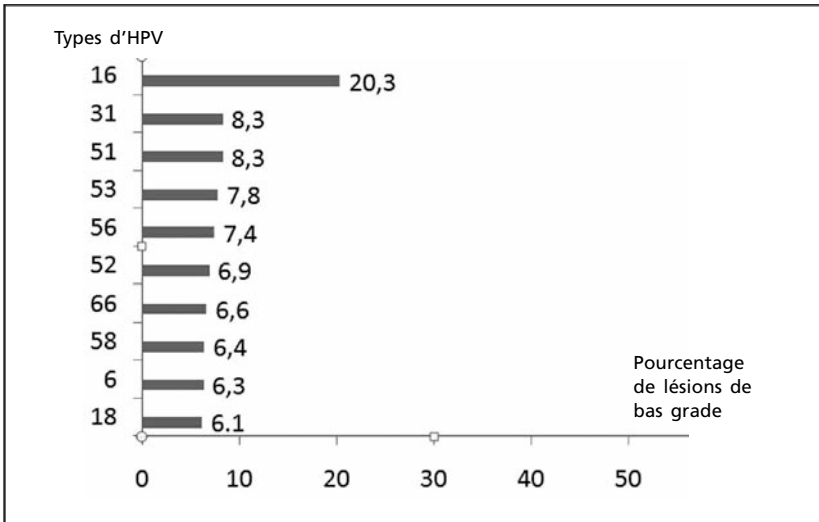
II.d. Distribution des HPV dans les lésions de bas grade

L'étude française Edith 3 a étudié la distribution des génotypes d'HPV chez près de 400 patientes résidant dans le nord de la France et ayant un frottis LSIL [8]. Dans près de la moitié des cas, ces lésions sont associées à un HPV oncogène. Les 6 génotypes les plus fréquemment retrouvés sont les HPV 66 (risque indéterminé), 16, 53 (risque indéterminé), 51, 52, 18 retrouvés dans 25 %, 21 %, 18 %, 17 %, 14 % et 7 % respectivement. La distribution au niveau mondial des HPV dans les lésions de bas grade semble différente. D'après Louie *et al.*, les

6 génotypes les plus fréquemment retrouvés sont l'HPV 16 (20 %), 31 (8 %), 51 (8 %), 53 (8 %), 56 (7 %) et l'HPV 66 ne représenterait que 6 % des lésions de bas grade (Figure 3) [14].

On notera par ailleurs que dans toutes les séries, les co-infections sont d'autant plus fréquentes que les lésions sont peu sévères. Au stade de CIN3+, les co-infections deviennent rares.

Figure 3 - Distribution des génotypes d'HPV dans les lésions de bas grade [14]



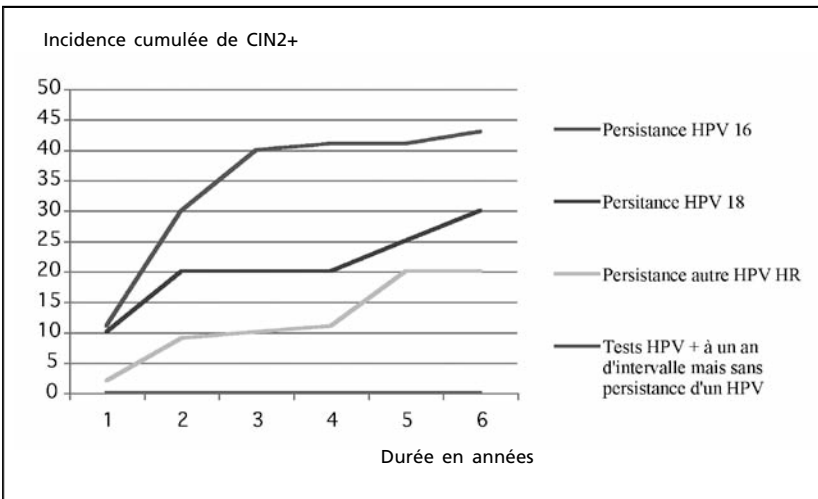
III. POTENTIEL ÉVOLUTIF DES LÉSIONS EN FONCTION DU TYPE D'HPV

Les auteurs de la dernière étude Edith ont comparé pour chaque HPV sa distribution dans les lésions LSIL et dans les cancers invasifs en calculant un rapport « cancer /LSIL ratio » [8]. Un rapport supérieur à 1 pour un virus donné signifie donc qu'il est retrouvé de manière plus importante dans les cancers que dans les lésions de bas grade. 3 génotypes sont dans ce cas : HPV 16, 33 et 18 avec des rapports cancer/LSIL à 3,4 ; 3,1 et 2,1 respectivement. Les auteurs suggèrent que les différences entre les proportions d'HPV observées dans les LSIL et les cancers

invasifs reflètent le risque de progression des lésions en fonction des génotypes. Ainsi les HPV les plus à risque seraient les génotypes 16, 33 et 18. Les auteurs modèrent cependant leur conclusion en soulignant que la comparaison entre des lésions cytologiques (frottis LSIL) et histologiques (cancer invasif) est source de biais.

Castle *et al.* ont suivi une cohorte de plus de deux mille patientes ne présentant pas de lésion cervicale à l'entrée dans l'étude [17]. Deux tests HPV (génotypage) étaient réalisés à un an d'intervalle (à 9 et 21 mois) et les patientes étaient suivies pendant au moins cinq ans à la recherche de l'apparition de lésions cervicales. Les auteurs souhaitaient ainsi évaluer le risque d'apparition de lésions de haut grade en fonction de la persistance sur au moins 1 an des différents génotypes d'HPV. Parmi les patientes ayant deux tests HPV positifs à un an d'intervalle, le risque de développer une lésion de haut grade (CIN2+) dans les cinq ans varie en fonction des résultats du génotypage. Les auteurs retrouvaient 36 % de lésions de haut grade en cas de persistance de l'HPV 16, 28 % en cas de persistance de l'HPV 18 et 15 % en cas de persistance d'un autre HPV HR. Enfin, les auteurs ne retrouvaient aucun CIN2+ si les deux tests HPV étaient positifs pour des génotypes différents (pas de persistance). Les auteurs calculaient également des taux d'incidence cumulée de CIN2+ à 3 et 5 ans en fonction des résultats du génotypage (Figure 4). Ces résultats

Figure 4 - Taux d'incidence cumulée de CIN2+ en fonction du génotypage. D'après Castle [17]



montraient que la persistance d'un HPV oncogène sur une courte période était un facteur de risque de développer une lésion de haut grade. La persistance d'un HPV 16, et dans une moindre mesure d'un HPV 18, semblait plus à risque que la persistance d'autres types d'HPV, ce qui souligne leur rôle dans la carcinogénèse du col. En revanche, avoir deux tests HPV positifs à un an d'intervalle pour des génotypes différents (absence de persistance) ne paraît pas être un facteur prédictif d'apparition de lésions de CIN2+

Une équipe japonaise a suivi une cohorte de 570 patientes ayant un frottis LSIL et un diagnostic de CIN1 ou 2 à la biopsie [9]. Le génotypage d'HPV se faisait lors de l'entrée dans l'étude. Les patientes étaient suivies tous les 4 mois sur une durée moyenne de 39 mois par cytologie et colposcopie. Au total, 46 lésions ont progressé vers un CIN3 et 362 ont régressé (cytologie normale). Aucun cancer n'était diagnostiqué sur cette période. La probabilité de régression à deux ans était de 62,3 % et celle de progression (vers un CIN3) à 5 ans était de 12,1 %. Les lésions associées à des infections multiples persistaient plus souvent que celles associées à la présence d'un seul type d'HPV, bien que les infections multiples ne semblent pas corrélées à un risque plus élevé de progression ($p = 0,07$). En revanche, les auteurs constataient que le risque de persistance ou de progression d'une lésion de CIN1 ou 2 variait considérablement en fonction du type d'HPV. Nous avons résumé figure 5 les probabilités et les risques de progression d'une lésion en fonction des HPV les plus fréquemment retrouvés. D'après ces résultats, les quatre génotypes ayant le plus fort potentiel évolutif sont les HPV 31, 33, 18 et

Figure 5 - Probabilité et risque de progression dans les 5 ans d'une lésion de bas grade vers CIN3 en fonction du génotype. D'après Matsumoto [9]

Type d'HPV	Probabilité de progression	RR (ajusté sur l'âge)
52	19,4 (10,3-34,9)	11,6 (1,45-93,3) $p = 0,02$
16	26,4 (13,4-48,0)	11,1 (1,39-88,3) $p = 0,02$
51	8,9 (2,5-29,4)	5,74 (0,59-55,8) $p = 0,13$
58	15,1 (7,0-31,1)	8,85 (1,01-77,6) $p = 0,04$
18	7,7 (1,1-43,4)	14,1 (0,65-306,1) $p = 0,09$
33	36,0 (12,6-77,4)	20,3 (1,78-230,6) $p = 0,02$
31	33,7 (12,0-73,4)	24,7 (2,51-242,6) $p = 0,006$
35	14,3 (2,1-66,6)	13,7 (0,75-250,8) $p = 0,08$
Bas risque ou HPV négatif	1,7 (0,2-11,4)	1

16 avec des risques relatifs à 24,7 ; 20,3 ; 14,1 et 11,1 respectivement. Les auteurs ont ensuite regroupé les HPV en trois groupes : les 8 génotypes les plus couramment associés au cancer cervical au niveau mondial dans le groupe 1 (16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 et 58), cinq autres HPV oncogènes (HPV 39, 51, 56, 59 et 68) dans le groupe 2, et les HPV BR dans le groupe 3. La probabilité de voir progresser la lésion à cinq ans est alors de 20,5 %, 6 % et 1,7 % pour les groupes 1, 2 et 3 respectivement. Il faut individualiser les patientes de moins de 30 ans pour lesquelles le risque de progression vers un CIN3 est de 16,9 % (95 % CI : 6,2-36,2 %) avec un HPV du groupe 1, alors qu'il est estimé nul lorsque il y a la présence d'un HPV du groupe 2 ou 3. Les auteurs concluaient donc que le génotypage pourrait au minimum permettre de stratifier le risque de progression des lésions dans la population de LSIL/CIN1, 2 et ainsi d'adapter le rythme du suivi.

D'après les résultats de ces différentes études, il semble que chaque génotype ait un potentiel évolutif différent (à moduler aussi en fonction de l'âge de la patiente). Une des questions qui se pose est de savoir comment intégrer ces constatations de manière la plus efficace pour améliorer notre prise en charge des lésions dysplasiques.

IV. PROPOSITION POUR L'INTÉGRATION DU GÉNOTYPAGE DANS LA PRISE EN CHARGE DES LÉSIONS DYSPLASIQUES

IV.a. Prise en charge des CIN1 diagnostiqués après un frottis < HSIL (ASC-US, ASC-H ou LSIL)

Les recommandations françaises de 2002 ne prennent pas en compte l'apport de la virologie pour la prise en charge de ces lésions [1]. Celles émises par la société américaine de pathologie cervicale en 2006 proposent un suivi soit avec des tests HPV tous les douze mois, soit par des frottis répétées tous les six à douze mois. Si un test HPV est positif ou si deux frottis successifs sont ASCUS ou plus, alors une colposcopie est recommandée. En revanche, si un test HPV est négatif ou si deux frottis consécutifs sont négatifs, alors la patiente peut bénéficier du dépistage de routine [18]. L'intérêt du génotypage pourrait permettre d'assouplir la surveillance pour les patientes ayant deux tests positifs mais pour deux génotypes différents. En effet, la présence de deux génotypes différents à un an d'intervalle équivaut à une absence de persistance d'un HPV, ce

qui semble rassurant. Ainsi une patiente ayant deux tests HPV positifs mais de génotypes différents à un an d'intervalle pourrait de nouveau bénéficier du dépistage standard.

IV.b. Prise en charge des CIN2

Les recommandations françaises concernant le traitement des CIN2 datent de 2002 et proposent de les considérer comme les CIN3, et donc de les traiter systématiquement [1]. Les recommandations américaines de 2006 sont différentes des textes français pour le traitement de ces lésions chez l'adolescente et la femme jeune [18]. En effet, de nouvelles données sont publiées sur le taux important de régression de ces lésions dans cette population ainsi que sur les conséquences néfastes des traitements sur le pronostic obstétrical. La société américaine de pathologie cervicale accepte par conséquent la surveillance de ces lésions si le frottis amenant le diagnostic n'est pas HSIL et si la colposcopie est satisfaisante. Dans un article publié en 2009, nous proposons également la surveillance possible des CIN2 chez la femme de moins de trente ans en ajoutant comme condition l'absence d'HPV 16 à la virologie [19]. En effet, plusieurs auteurs rapportaient que la probabilité de régression pour une lésion de CIN2 était significativement plus faible lorsqu'elle était associée à ce génotype. Matsumoto *et al.* retrouvent aussi un rôle péjoratif de l'HPV 16 avec une probabilité de progression de 45,5 % (IC 95 % [13,9-91,4]) à deux ans, mais également des HPV 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58 avec une probabilité de progression sur deux ans à 40,5 %, (IC 95 % [23,7-63,1]) [9]. Cependant, les auteurs n'ont pas pu comparer ces taux en ajoutant le paramètre de l'âge du fait d'un faible nombre de CIN2. Ainsi il nous semble prématuré de conclure que la présence d'un HPV 18, 31, 33, 35, 45, 52 ou 58 doit conduire à un traitement systématique des lésions de CIN2 chez les patientes de moins de trente ans, comme nous le préconisons pour la présence d'un HPV 16. Il semble toutefois intéressant de noter qu'il existe possiblement un groupe d'HPV HR plus à risque que d'autres et comprenant les génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58, amenant au minimum à une surveillance rapprochée des lésions de CIN2. Quoi qu'il en soit, d'autres résultats doivent être publiés pour confirmer ou infirmer ces constatations avant de pouvoir proposer des recommandations intégrant le génotypage pour la prise en charge des CIN2.

IV.c. Prise en charge des lésions de CIN3

Aucune donnée nouvelle dans la littérature ne permet d'inclure le génotypage dans l'arbre décisionnel de la prise en charge des CIN3. Il apparaît donc souhaitable de ne pas modifier les attitudes et de traiter les patientes systématiquement, quels que soient leur âge et le génotype retrouvé.

CONCLUSION

Le génotypage est utile pour la réalisation d'études épidémiologiques permettant par exemple d'approfondir nos connaissances sur la répartition des différents types d'HPV en fonction des lésions et des continents. La détection des différents génotypes pourrait être un outil d'avenir dans le dépistage et la prise en charge des lésions précancéreuses du col utérin. Les données scientifiques sont actuellement peu nombreuses et ne concernent principalement que le pronostic des lésions histologiques en fonction du type d'HPV retrouvé. Une aide à la prise en charge des CIN1 et des pistes concernant la prise en charge des CIN2 peut à ce jour être discutée mais aucun résultat ne concerne l'organisation du dépistage, ni la prise en charge des CIN3. Avant une mise en pratique du génotypage, outre la nécessité de publier de nouvelles données, différentes étapes sont indispensables comme le contrôle de qualité des laboratoires proposant les tests. Enfin, il nous semble important que le coût d'une telle pratique soit acceptable pour qu'elle puisse être appliquée à toute une population.

Bibliographie

- [1] ANAES, recommandations pour la pratique clinique. Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal, septembre 2002.
- [2] Van Doorn LJ, Quint W, Kleter B, Molijn A, Colau B, Martin MT, Kravang IN, Torrez-Martinez N, Peyton CL, Wheeler CM. Genotyping of human papillomavirus in liquid cytology cervical specimens by the PGMV line blot assay and the SPF line probe assay. *J Clin Microbiol* 2002 Mar;40(3):979-83.
- [3] Coutlée F, Rouleau D, Petignat P, Ghattas G, Kornegay JR, Schlag P, Boyle S, Hankins C, Vézina S, Coté P, Macleod J, Voyer H, Forest P, Walmsley S; Canadian Women's HIV study Group, Franco EJ. Enhanced detection and typing of human papillomavirus (HPV) DNA in anogenital samples with PGMV primers and the Linear array HPV genotyping test. *Clin Microbiol* 2006 Jun;44(6):1998-2006.
- [4] García-Sierra N, Martró E, Castellà E, Llatjós M, Tarrats A, Bascuñana E, Diaz R, Carrasco M, Sirera G, Matas L, Ausina V. Evaluation of an array-based method for human papillomavirus detection and genotyping in comparison with conventional methods used in cervical cancer screening. *J Clin Microbiol* 2009 Jul;47(7):2165-9.
- [5] Dalstein V, Merlin S, Bali C, Saunier M, Dachez R, Ronsin C. Analytical evaluation of the PapilloCheck test, a new commercial DNA chip for detection and genotyping of human papillomavirus. *J Virol Methods* 2009 Mar;156(1-2):77-83.
- [6] Schmitt M, Bravo IG, Snijders PJ, Gissmann L, Pawlita M, Waterboer T. Bead-based multiplex genotyping of human papillomaviruses. *J Clin Microbiol* 2006 Feb;44(2):504-12.
- [7] Sjoeborg KD, Tropé A, Lie AK, Jonassen CM, Steinbakk M, Hansen M, Jacobsen MB, Cuschieri K, Eskild A. HPV genotype distribution according to severity of cervical neoplasia. *Gynecol Oncol* 2010 Jul;118(1):29-34.
- [8] Prétet JL, Jacquard AC, Saunier M, Clavel C, Dachez R, Gondry J, Pradat P, Soubeyrand B, Leocmach Y, Mougin C, Riethmuller D; EDiTH study group. Human papillomavirus genotype distribution in lowgrade squamous intraepithelial lesions in France and comparison with CIN2/3 and invasive cervical cancer: the EDiTH III study. *Gynecol Oncol* 2008 Aug;110(2):179-84.
- [9] Matsumoto K, Oki A, Furuta R, Maeda H, Yasugi T, Takatsuka N, Mitsuhashi A, Fujii T, Hirai Y, Iwasaka T, Yaegashi N, Watanabe Y, Nagai Y, Kitagawa T, Yoshikawa H; for Japan HPV And Cervical Cancer (JHACC) Study Group. Predicting the progression of cervical precursor lesions by human papillomavirus genotyping: a prospective cohort study. *Int J Cancer* 2010 Aug 23.
- [10] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. International Agency for research on cancer multicenter cervical cancer study group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
- [11] De Villers, Fauquet, Broker, Bernard, Hausen, Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004 Jun 20;324(1):17-27.
- [12] Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R *et al.* Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007;121:621-32.
- [13] Muñoz N, Bosch FX, Castellsagué X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D *et al.* Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer* 2004;111:278-85.
- [14] Louie, Didelot, Damay, Nagot, Mayaud, Degondy, Papillomavirus humain et cancers associés: aspects épidémiologiques. *Revue francophone des laboratoires* 2008 sept-oct;405:27-34.
- [15] Pretet JL, Jacquard AC, Carcopino X, Charlot, Bouhour, Kantelip, Soubeyrand B, Leocmach Y, Mougin C, Riethmuller D, for the EDITH study group. Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in invasive cervical cancers in France: EDITH study. *Int J Cancer* 2008;122:428-432.
- [16] Pretet JL, Jacquard AC, 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;122:424-7.

[17] Castle PE, Rodríguez AC, Burk RD, Herrero R, Wacholder S, Alfaro M, Morales J, Guillen D, Sherman ME, Solomon D, Schiffman M; Proyecto Epidemiológico Guanacaste (PEG) Group. Short-term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population-based cohort study. *BMJ* 2009 Jul 28;339:b2569.

[18] Wright *et al.* 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma *in situ*. *Am J Obstet Gynecol* 2007 Oct;197(4):340-5.

[19] Muszynski C, Carcopino X, Gondry J. Faut-il encore traiter les CIN2 ? Mises à jour en gynécologie médicale (éditeur CNGOF) 2009: 565-576.