

Dépistage opportuniste et combiné des  
cervicites à chlamydia trachomatis (CT)  
durant le dépistage des dysplasies  
cervicales à partir d'un seul prélèvement en  
milieu liquide AutoCyte PREP

Dr. J.L. Anguenot

Département de gynécologie et d'obstétrique

Hôpital universitaire de Genève

**CT**

1ère MST bactérienne  
50 millions/an



- PID
- GEU
- Infertilité tubaire
- Douleur pelvienne chronique
- Urétrite prostatite
- Infection néonatale

**HPV**

1ère MST virale



- Asymptomatique
- Pic prévalence (16-25 ans)
- Même facteur de risque

- Condylome
- Dysplasie cervicale
- Cancer du col 85 % HPV DNA(+)
- Autre cancer ?

# Dépistage combiné sur frottis monocouche

Inflammation cervicale et infection cervicale pourraient altérer la qualité du frottis cytologique

→ Différer le dépistage une fois le traitement effectué

- **Frottis monocouche (Thin PREP pap test / Cytorich)**
  - Echantillon plus représentatif (2 millions de cellules épithéliales)
  - Amélioration de la qualité de lecture
  - Amélioration de la performance
    - ↑ LGSIL
    - ↑ HGSIL
    - ↓ ASCUS

# Validation du dépistage combiné

→ Valider la procédure de détection du CT

LCx modifiée  
Prélèvement en milieu liquide

LCx Abbott (gold standard)  
Ecouvillon cervical

→ Vérifier que les critères de qualité du prélèvement cytologique ne sont pas altérés par le portage cervical du CT

# Etude genevoise

**Populations** : 590 femmes consultant à la polyclinique de janvier 98 à avril 99

- Différentes unités
  - polyclinique générale
  - consultation des ados
  - planning familial
- **Femmes à haut risque pour le CT (n = 520)**
  - Adolescentes sexuellement actives
  - Suspicion de PID
  - Consultation pour MST
  - Pratiques sexuelles à risque (1er RS précoce, partenaires multiples, RS non protégé, IVG multiples)
- **Femmes à bas risque pour le CT (n = 70)**

# Procédure clinique

## 2 prélèvements cervicaux lors de l'examen (dans l'ordre suivant) :

- **1<sup>er</sup>** prélèvement par un écouvillon endocervical spécifique (Kit Abbott LCx)
  - Envoyé au Laboratoire Central de Bactériologie HUG
- **2<sup>ème</sup>** prélèvement par Cervex Brush ou Cytobrush
  - la tête est détachée et plongée dans le milieu liquide de préservation (Autocyte PREP) conservée à température ambiante et envoyée 1/semaine au Laboratoire Cytopath

# Procédure cytologique

## Frottis monocouche Cytorich

- suspension de 1 à 2 millions de cellules épithéliales
- filtration par centrifugation au travers d'un gradient de densité
- resuspension
- cellules déposées en monocouche (115000 cellules/cercle)

## Analyse cytologique

- Méthode de Papanicolaou selon les critères de Bethesda
- Qualité du frottis :
  - satisfactory - SBLB - unsatisfactory
- Résultat cytologique :
  - normal - LGSIL - HGSIL - ASCUS - AGUS

# Procédure microbiologique

- **1er prélèvement**  
→ Laboratoire Central de Bactériologie  
Prof. R. Auckenthaler  
(LCR conventionnelle LCx Abbott)
- **Matériel résiduel du 2ème prélèvement**  
→ Institut Bioanalytique  
F. de Marval  
(LCR expérimentale LCx Abbott)

# Traitement et analyse des résultats

- La détection du CT est analysée indépendamment dans chaque laboratoire et les résultats sont comparés à la fin de l'étude
- Le taux de concordance entre les 2 méthodes d'amplification génique est évalué par le coefficient Kappa (Kappa > 80 % est représentatif d'un taux de concordance excellent - *Seigel et al 1992*)
- Pour l'analyse cytologique, la recherche d'une différence significative entre la population CT+ et CT- est évaluée par le Fisher exact test ou par le Chi test  
 $P < 0.05$  est considéré comme statistiquement significatif

# Résultats (1)

Results of modified procedure of LCR as compared with conventional Abbott LCx

	LCR modified procedure (specimens in AutoCyte's preservative fluid)	
LCR conventional (Abbott LCx) (cervical swabs)	Negative	Positive
Negative	560	1*
Positive	1**	28

\* uncertain result (fluctuating values < cut off)

\*\* weakly positive result (< cut off)

**Kappa = 0.96 CI (0.91 - 1.00)**

- Les performances du dépistage des cervicites à CT par LCR à partir du matériel résiduel du frottis monocouche (Cytorich) sont conservées.
- La recherche supplémentaire du CT par amplification génique à partir du prélèvement en milieu liquide AutoCyte PREP est donc possible.
- La première étape de l'étude de faisabilité du dépistage combiné est donc validée.

- **Autres méthodes de détection du CT à partir du Pap test**

- Détection cytologique des inclusions intracytoplasmiques à CT (Papanicolaou)

- Méthode subjective
- Grande variation interobservateur
- Spécificité faible

} Élément d'orientation

- Immunofluorescence *Rantala et al 1998*

- Interprétation subjective
- Performance < à l'amplification génique

- Amplification génique (PCR, LCR, TMA = méthode de référence).

- Se augmentée de 20 % / culture
- Spe environ 99 %

Generally accepted sensitivities for chlamydia detection methods based on reports using an expanded gold standard for comparison

Specimen	Avg sensitivity (%)				Nucleic acid amplification (LCR, PCR, and TMA)
	Culture	Antigen detection		DNA probe	
		DFA	EIA		
Cervix	80-85 (47-95)	75-80 (61-96)	75-80 (60-96)	75-80 (60-93)	90-95 (81-100)
Urine (female)			35-40 (19-62)		85-95 (77-100)
Urethra (male)	75-80 (38-94)		70-75 (43-87)	70-75 (70-89)	96-98 (95-100)
Urine (male)			75-80 (44-96)		90-95 (84-100)

*Cumitech, janvier 1999*

# Résultats (2)

		Chlamydia T. positive = 30	Chlamydia T. negative n = 560	
<b>Inflammatory specimens (N=186)</b>		14 (46.6 %)	172 (30.7%)	<i>P = 0.07</i>
<b>Specimen adequacy</b>				<i>P = 0.83</i>
▪ Satisfactory	N = 526 (89.1 %)	28 (86.7 %)	500 (89.3 %)	
▪ Satisfactory but limited	N = 62 (10.5 %)	4 (13.3 %)	58 (10.3 %)	
→ by absence of endocervical component	57 (9.7 %)	4 (13.3 %)	53 (9.5 %)	
→ by obscuring factors	5 (0.8 %)	0	5 (0.9 %)	
▪ Unsatisfactory	N = 2 (0.3 %)	0	2 (0.4 %)	
<b>Bethesda cytologic diagnosis</b>				<i>P = 0.77</i>
▪ Normal	N = 528)	27 (90 %)	501 (89.5 %)	
▪ ASCUS	N = 13	0	13 (2.3 %)	
▪ LGSIL	N = 45	3 (10 %)	42 (7.5 %)	
▪ HGSIL	N = 4	0	4 (0.7 %)	

# Association between inadequate cytology and infection *(Edwards et al 1998)*

	Total No of smears	No inadequate	% inadequate
No infection	242	42	17.4
Infection present	411	67	16.3
Candida (c)	118	21	17.8
Candida (s)	87	10	11.5
BV	88	13	14.8
Trichomoniasis	1	0	0
Chlamydia	33	5	15.2
Gonorrhoea	2	0	0
Herpes simplex	15	2	13.3
Pus +++	143	22	15.4
Pus ++++	48	7	14.6

- La qualité du frottis n'est pas affectée par les cervicites à chlamydia.
- Ces résultats sont similaires aux études réalisées dans la population générale genevoise.
  - 87.5 % pour satisfactory
  - 1.23 % pour satisfactory but limited by obscuring factor
  - 0.15 % pour unsatisfactory
- Imprudence du Pap test différé en cas de cervicite lors de la 1<sup>ère</sup> consultation à la polyclinique  
*Ross et al 1995* (taux de défection au rendez-vous = 15 %).
- Mauvaise adhésion au dépistage = Antécédent "modifiable" le plus fortement corrélé au cancer du col.
- La 2<sup>ème</sup> étape de l'étude de faisabilité du dépistage combiné est validée.

# Conclusion

- Procédure expérimentale de détection du CT par LCR à partir du prélèvement en milieu liquide (Autocyte PREP) est aussi pertinent que notre examen conventionnel LCx Abbott à partir d'un écouvillonnage de l'endocol
- Le prélèvement conventionnel en milieu liquide permettrait de réaliser un dépistage combiné des cervicites à CT et de SIL, tout en respectant les critères de qualité du frottis cytologique.
- La procédure clinique est simplifiée (1 seul prélèvement)

# Quelle justification pour ce dépistage opportuniste et combiné du CT lors du Pap test ?

- L'infection à CT répond aux impératifs d'un dépistage
  - Prévalence élevée (pop. à haut risque)
  - Morbidité importante (prévenue par un traitement précoce)
  - Accessible au diagnostic (amplification génique)
  - Accessible au traitement (Azithromycine 1 g > 7 j. de Cycline)
  - Rentable (si prévalence > 3-6 %)

- **Dépistage systématique ou ciblé ?**

Grande disparité de la prévalence

- **C'est à chaque pays avec son système de santé de :**
  - connaître la prévalence du CT dans sa population générale
  - connaître l'importance des séquelles liées à cette infection
  - connaître les facteurs de risque → pop à haut risque
  - valider une politique de dépistage (coût - bénéfice)
  - promouvoir les campagnes de prévention

# Quelle population à haut risque ?

- Femmes sexuellement actives
- Age
  - pic de prévalence 16-25 ans
  - Prévalence inversement corrélée à l'âge
  - Limite supérieure 25 ? 30 ans ?
- Femmes symptomatiques
  - PID
  - MST
  - Col "friable"
- Femmes asymptomatiques
  - Toutes adolescentes sexuellement actives
  - Pratiques sexuelles à risque
    - RS précoce, partenaires multiples, RS non protégé, niveau socio-économique bas, critères ethniques

## Comparison of the prevalence of chlamydia trachomatis in the high risk and low risk groups

Results	Screened	Positive	Prevalence % (95% CI)
Total population	590	30	5.1 %
High risk group	520	29	5.9 %
Low risk group	70	1	1.4 %

## High risk and low risk groups combined and stratified by age for number of women screened for chlamydia trachomatis

Age	Screened	Positive	Prevalence % (95 % CI)
≤ 19	160	10	6.3 %
20-24	127	12	9.4 %
25-29	112	5	4.5 %
30-34	93	3	3.2 %
≥ 35	98	0	-

**Prévalence = 6.7 % si < 30 ans, 1.6 % si ≥ 30 ans**

# Etude coût / bénéfice - coût / efficacité

Auteurs	Pays	Méthode dépistage	Pre	Conclusion
Humphreys et al 1991	USA	EIA	7.7 %	Dépistage systématique > à dépistage sélectif > pas de dépistage 92 % CT+ < 30 ans
Howell et al 1997	USA	EIA DNA prob PCR (c) (u) LCR (c) (u)	9.2 %	PCR et LCR les plus rentables Si examen → col Si pas examen → urine
Genç et al 1996	Suède	Amplification génique		<b>Si pre &gt; 6 %</b> , le dépistage par amplification génique avec ttt par Azithromycine ♂ / ♀ est rentable
Paavonen et al 1996	UK	Amplification génique urinaire		Rentabilité si prévalence > 3%

# CT et cancer du col

## Etude cas/contrôle sero-épidémiologique AC+ /CT

Auteurs	Pathologie étudiée	OR	Ajustement par HPV
Schachter (1982)	Cancer col	2	Non
De Sanjose (1994)	CIN III	1.8 2.2	Oui
Hsieh (1999)	Cancer col	7	Non
Koskela (2000)	Cancer col	2.2	Oui
Koutsky (1992)	CIN II - III	2.4 (AC+) 1.1 (Culture+)	Oui

- Le risque est faible
- Pas de corrélation entre CT (portage cervical) et dysplasie et cancer invasif du col
- Le rôle du chlamydia dans la génèse du cancer du col n'est pas très clair

## CT HPV et dysplasie

	HPV +	HPV -
CT +	10	2.9
CT -	21	1

# Dépistage monocouche

Dépistage dans l'année du 1<sup>er</sup> rapport

SIL + CT

**30 ans**

SIL ± HPV