

Université de Poitiers
Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE 2016

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)

et

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement
le 3 juin 2016 à POITIERS
par Monsieur ROBERT François

Détection des HPV à haut risque comme alternative pour les femmes non
adhérentes au dépistage cytologique du cancer du col utérin :
Etude pilote sur l'acceptabilité et la faisabilité de l'auto-prélèvement vaginal et
du prélèvement urinaire.

Composition du jury :

Président : Monsieur le Professeur Gérard AGIUS
Membres : - Madame le Docteur Agnès BEBY-DEFAUX
- Madame le Docteur Stéphanie GRANDCOLIN
- Madame le Professeur Christine IMBERT
- Monsieur le Professeur Nicolas LEVEQUE

Directeur de thèse : Madame le Docteur Agnès BEBY-DEFAUX



PHARMACIE

Professeurs

- CARATO Pascal, Chimie Thérapeutique
- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

Maîtres de Conférences

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
- GRIGNON Claire, PH
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

- PAIN Stéphanie, Toxicologie
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Pharmaco chimie, Produits naturels

PAST - Maître de Conférences Associé

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwyn, Pharmacien

Professeur 2nd degré

- DEBAIL Didier

Maître de Langue - Anglais

- JORDAN Steven

Poste d'ATER

- COSTA Damien

Poste de Moniteur

- VERITE Julie



Le Doyen,

Année universitaire 2015 - 2016

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- ALLAL Joseph, thérapeutique
- BATAILLE Benoît, neurochirurgie
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie – virologie
- CARRETIER Michel, chirurgie générale
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- EUGENE Michel, physiologie (**surnombre jusqu'en 08/2016**)
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
- GUILLET Gérard, dermatologie
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- HERPIN Daniel, cardiologie
- HOUETO Jean-Luc, neurologie
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation (**en détachement**)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- MACCHI Laurent, hématologie
- MARECHAUD Richard, médecine interne
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PAQUEREAU Joël, physiologie (**jusqu'au 31/10/2015**)
- PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
- POURRAT Olivier, médecine interne (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBERT René, réanimation
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (**surnombre jusqu'en 08/2017**)
- SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
- SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Arnaud, réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail
- BILAN Frédéric, génétique
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DIAZ Véronique, physiologie
- FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
- FRASCA Denis, anesthésiologie – réanimation
- HURET Jean-Loup, génétique
- LAFAY Claire, pharmacologie clinique
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie (ex-CATEAU)
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- SAPANET Michel, médecine légale
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- THULLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités de médecine générale

- GOMES DA CUNHA José

Professeurs associés de médecine générale

- BINDER Philippe
- BIRAULT François
- VALETTE Thierry

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- BOUSSAGEON Rémy
- FRECHE Bernard
- GIRARDEAU Stéphane
- GRANDCOLIN Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VICTOR-CHAPLET Valérie

Enseignants d'Anglais

- DEBAIL Didier, professeur certifié
- JORDAN Stephen, maître de langue étrangère
- SASU Elena, contractuelle enseignante

Professeurs émérites

- DORE Bertrand, urologie (08/2016)
- GIL Roger, neurologie (08/2017)
- MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (08/2016)
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (08/2017)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (08/2017)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GOMBERT Jacques, biochimie
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépto-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- POINTREAU Philippe, biochimie
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOUCHARD Guy, néphrologie
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

Remerciements

A Monsieur le Professeur Gérard Agius.

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter la Présidence de cette thèse. Après m'avoir fait aimer la Virologie sur les bancs de la Faculté de Pharmacie de Poitiers, vous m'avez accueilli avec bienveillance durant mon Internat pendant plusieurs semestres dans votre service. Je vous remercie de m'avoir fait partager la richesse de vos connaissances et d'avoir accepté de juger cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de toute mon estime et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Agnès Beby-Defaux, qui a dirigé ma thèse.

Je tiens tout particulièrement à te remercier de m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse. Merci également pour ta disponibilité, ta gentillesse, ta patience et ton sens de l'écoute. Ton soutien et ton aide, toujours dans la bonne humeur, m'ont été très précieux.

J'espère que tu trouveras dans ce travail l'expression de ma plus profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Nicolas Lévêque.

Merci de m'avoir accueilli ce dernier semestre dans votre service et de m'avoir accordé tout le temps nécessaire à la rédaction de ma thèse. Merci également pour votre gentillesse et pour le dévouement que vous portez à l'ensemble de vos étudiants. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus sincère reconnaissance.

A Madame le Professeur Christine Imbert.

Je vous remercie d'avoir aimablement accepté de juger mon travail aujourd'hui. Soyez assurée de l'honneur que vous me faites.

A Madame le Docteur Stéphanie Grandcolin.

Merci pour l'intérêt que vous portez à mon sujet de thèse, c'est un honneur que vous jugiez mon travail aujourd'hui. Pour cela, veuillez accepter mes plus sincères remerciements.

A Madame le Docteur Stéphanie Ragot.

Je vous remercie beaucoup pour votre aide précieuse et indispensable pour la réalisation des statistiques malgré votre emploi du temps très chargé. Soyez assurée de ma reconnaissance.

A Monsieur Patrick Mura, chef du pôle BIOSPHARM, et à Madame Florence Mauvignier, cadre supérieure du pôle BIOSPHARM, qui ont accepté que l'étude soit faite.

A toutes les femmes qui ont accepté de participer à cette étude et sans lesquelles ce travail n'aurait pu se faire. Un grand merci à toutes !

Aux techniciennes du laboratoire de Microbiologie Moléculaire et Séquençage. Vous avez vraiment géré! Vous avez grandement contribué à ce travail de thèse et je vous en remercie.

Au personnel du laboratoire du CHU de Poitiers pour ces semestres passés en votre compagnie.

Au personnel du laboratoire de l'Hôpital de Niort. Merci de m'avoir accueilli avec tant de gentillesse.

A Manu le Hollandais,

Merci pour tous ces fous rires qui ont fait que les journées paraissaient plus courtes qu'elles n'étaient. A nos passions communes (les belles mécaniques et les gros sons) et à ces voyages à Brest ou à Toulouse qui se soldaient systématiquement par un trip qui « noune fsait marene ».

A Soso,

Merci pour ton soutien pour l'écriture de cette thèse et pour toutes nos discussions où l'on refaisait le monde, mais pas n'importe lequel : le monde de la Biologie. Maintenant à toi de jouer...

A Manue,

Merci pour ta gentillesse et de m'avoir supporté pendant quatre ans. Jamais (ou presque !) tu n'as levé la voix alors que tu aurais pu le faire des centaines de fois...

A Pollux et Aurél,

Vous avez décidé de vous expatrier mais j'ai une pensée pour vous. On avait quand même une super promo !

A Christo et Ali, les grands microbiologistes !

Aux internes hors-filière côtoyés pendant l'internat : Aymeric, Mathilde, Jeanne et Mélanie. Merci de nous apporter une ouverture d'esprit indispensable à la pratique de la Biologie Médicale.

A tous mes amis qui ont toujours été présents dans les moments importants de ma vie.

A l'ensemble de ma famille et de ma belle-famille.

A mes parents.

Vous m'avez donné les moyens et l'ambition de réussir. Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à présent, mais plus particulièrement pour votre soutien et votre amour. Maintenant, pensez un peu à vous !

A ma sœur, Elsa.

Huit ans après toi me voici dans la même salle pour valider mes années d'études.

J'espère que ma carrière professionnelle sera aussi brillante que la tienne.

A ma femme, Fanny.

Merci pour ton soutien indéfectible depuis que nous sommes ensemble. C'est aussi grâce à toi si je suis Biologiste Médical aujourd'hui car tu m'as donné la force de retenter l'Internat.

Tu m'as soutenu et supporté pendant toute la durée de l'Internat et de l'élaboration de cette thèse.

Merci pour tout, ton aide, tes encouragements, ta participation et ton amour.

J'en ferai autant pour toi dans quelques mois, je te le promets !

Je t'aime de tout mon cœur.

A ma fille, Alice.

Merci ma puce d'illuminer notre vie depuis dix-huit mois.

Merci aussi d'avoir supporté notre mode de vie et mes absences répétées à la maison ces derniers mois.

Je t'aime ma petite chérie.

Sommaire

I. Introduction	9
II. Les Papillomavirus humains (HPV)	10
1. Historique.....	10
2. Classification des HPV	10
3. Caractéristiques virologiques générales : structure du génome et protéines virales.....	12
4. Histoire naturelle de l'infection à HPV	16
4.1. Modes de contamination	16
4.2. Cycle viral	16
4.3. Evolution de l'infection	18
5. Oncogenèse virale.....	18
6. Infections par HPV : épidémiologie et lésions associées.....	20
6.1. HPV et cancers	21
6.2. HPV et peau.....	21
6.3. HPV et lésions ano-génitales	22
6.3.1. Les condylomes acuminés	23
6.3.2. Les néoplasies intra-épithéliales cervicales (CIN)	23
6.3.3. Autres localisations ano-génitales	24
6.4. HPV et VADS	24
7. Méthodes de détection des HPV	25
7.1. Réalisation des tests HPV	25
7.2. Critères de choix des tests HPV	26
7.3. Trousses de détection sans génotypage	26
7.4. Trousses de détection avec génotypage partiel concomitant.....	28
7.5. Trousses de détection et de génotypage	29
8. Prévention des infections à HPV	30
8.1. Prévention vaccinale	30
8.1.1.Principe.....	30
8.1.2. Recommandations.....	31
8.1.3. Efficacité de la vaccination contre HPV	32
8.2. Utilisation du préservatif.....	33
III. Le cancer du col de l'utérus	34
1. Rappels anatomiques.....	34
2. Rappels histologiques du col de l'utérus.....	35
2.1. Les différents épithéliums	35
2.2. Métaplasie pavimenteuse et zone de remaniement	36
3. Epidémiologie	37
4. Les facteurs de risque du cancer du col de l'utérus	39
5. HPV et cancer du col de l'utérus	40
5.1. Classification cytologique des lésions du col de l'utérus.....	41
5.2. Histoire naturelle du cancer du col utérin.....	42
6. Prévalence d'HPV selon les lésions cytologiques et histologiques	44
7. Signes cliniques et fonctionnels, classification et pronostic	45
8. Le dépistage en France	46
8.1. Dépistage par cytologie effectuée à partir d'un FCU	48
8.1.1. Les résultats des FCU	48
8.1.2. Les performances des techniques de FCU	49

8.2. Place du dépistage par test HPV HR	50
8.2.1. Les performances	50
8.2.2. Les options et les indications	51
8.3. Le dépistage organisé (DO)	53
8.3.1. Le DO : nouvelle piste en France pour augmenter la couverture	53
8.3.2. Etat des lieux du DO en Europe	54
8.4. L'alternative au FCU : l'auto-prélèvement	55
8.4.1. L'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage	56
8.4.2. L'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal, type Delphi-screener®	56
8.4.3. Le prélèvement urinaire	57
8.4.4. Etudes en France	58
8.4.5. Acceptation de l'auto-prélèvement	60
IV. Travail expérimental : étude SELFIPUR	61
1. Objectifs	61
2. Patientes	61
3. Matériel	61
4. Méthodes	61
4.1. Information et consentement	62
4.2. Questionnaire	62
4.3. Distribution des kits et recueil des prélèvements	62
4.4. Anonymisation et saisie des données	63
4.5. Rendu des résultats	63
4.6. Suivi des résultats anormaux	63
4.7. Traitement des échantillons	63
4.7.1. Extraction de l'ADN	63
4.7.2. Amplification de l'ADN	64
4.8. Analyse statistique	68
V. Résultats	69
1. Questionnaire	69
2. Performances des différents prélèvements pour la détection des HPV	71
3. Résultats des FCU	73
4. Statistique comparative univariée	74
VI. Discussion	76
VII. Conclusion	82
VIII. Bibliographie	83
IX. Annexes	91
X. Résumé	100

I. Introduction

Le cancer du col de l'utérus, 4^{ème} cancer de la femme dans le monde, est un enjeu majeur de Santé Publique. En France, le dépistage spontané par cytologie a contribué largement à la baisse de l'incidence de ce cancer, actuellement situé au 11^{ème} rang des cancers les plus fréquents. Toutefois, l'incidence se stabilise et ce cancer tue encore plus de 1100 femmes par an dans notre pays.

Il est maintenant clairement établi que certains papillomavirus humains (HPV) dits à haut risque (HR), principalement HPV16, sont responsables du cancer du col de l'utérus du fait de leurs propriétés oncogéniques. L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus montre qu'il fait suite à un continuum de lésions précancéreuses, appelées dysplasies ou néoplasies intra-épithéliales cervicales (CIN, *cervical intraepithelial neoplasia*), qui peuvent évoluer sur une quinzaine d'années. Ces lésions sont décelables par la pratique régulière de frottis cervico-utérins (FCU) permettant de réaliser une cytologie. Le respect des recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS) devrait permettre de dépister la majorité des lésions avant qu'elles ne deviennent cancéreuses. Cependant, la couverture en France du dépistage pour le cancer du col est insuffisante puisqu'elle est de l'ordre de 60%. Ainsi, une grande proportion de femmes ne peut être dépistée à temps. Le plan cancer 2014-2019 propose la mise en place d'un dépistage organisé et l'exploration de stratégies alternatives à la cytologie à partir de frottis cervico-utérin, en particulier la recherche d'HPV HR à partir d'auto-prélèvement vaginal pour les femmes non-répondeuses au dépistage habituel.

L'objectif de notre étude pilote était de comparer la faisabilité et l'acceptabilité de deux techniques d'auto-prélèvement (auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage et auto-prélèvement cervico-vaginal par lavage local appelé Delphi-screener®) et du prélèvement urinaire pour recherche d'HPV HR en alternative au frottis dans la population féminine du Pôle BIOSPHARM du CHU de Poitiers.

II. Les Papillomavirus humains (HPV)

1. Historique

Le terme papillomavirus tient son origine des deux mots latins « *papilla* », signifiant « bouton, mamelon, tétine », et « *oma* », désignant le caractère tumoral dans son ensemble. Jusqu'à la fin du 19^{ème} siècle, les verrues sont décrites et leur caractère contagieux suspecté, mais leur origine n'est pas encore établie. En 1907, un médecin italien du nom de Giuseppe Ciuffo démontre pour la première fois l'origine virale des verrues humaines par hétéro-inoculation d'un ultrafiltrat provenant d'une verrue. Dans les années 1920, la nature infectieuse des verrues génitales et de la papillomatose laryngée a également été confirmée par d'autres chercheurs. La première description d'HPV est réalisée en microscopie électronique par Strauss *et al*, en 1949. En 1976, Harald zur Hausen a été le premier à publier l'hypothèse d'un rôle des HPV dans l'étiologie du cancer du col utérin, hypothèse qu'il a confirmé par la suite. Il a également largement participé à la recherche pour la mise au point d'un vaccin. Ses travaux lui ont valu le prix Nobel de physiologie et de médecine en 2008. Aujourd'hui, il est bien avéré que les HPV sont impliqués dans les cancers du col de l'utérus mais également dans d'autres cancers des sphères anogénitale et oropharyngée. Une prévention du cancer du col de l'utérus par vaccination a été mise en place chez les adolescentes depuis le milieu des années 2000.

2. Classification des HPV

Les papillomavirus ont été classés initialement avec les polyomavirus en une seule famille : les *Papovaviridae*. Puis deux groupes ont été différenciés car la taille, l'organisation et la séquence nucléotidique de leurs génomes étaient différentes. Le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) a donc décidé de les séparer en deux familles et de reconnaître les *Papillomaviridae* et les *Polyomaviridae* (De Villiers *et al*, 2004).

La classification des *Papillomaviridae* est aujourd'hui basée sur la séquence nucléotidique du gène L1 codant pour la protéine majeure de capsid. Cette famille est composée de seize genres dont l'appartenance est définie par une homologie de séquence nucléotidique du gène L1 ne dépassant pas 60%. Ces seize genres sont désignés par une lettre grecque (α à π) mais seulement cinq (α , β , γ , μ et η) comportent des papillomavirus humains (Figure 1), les autres genres incluant uniquement des papillomavirus animaux. Ces genres sont ensuite subdivisés en espèces (papillomavirus ayant de 60 à 70% d'homologie) numérotées en chiffre arabe ; puis ces espèces renferment différents types (ayant de 71 à 89% d'homologie) qui eux-mêmes peuvent être subdivisés en sous-types (différence de 2 à 10 % par rapport au type) et même en variants (différence inférieure à 2 %) (De Villiers *et al*, 2004).

Ainsi, pour qu'un nouveau type d'HPV soit reconnu, il faut que son génome complet soit séquencé et que sa séquence L1 présente une divergence de plus de 10% avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement. Aujourd'hui, près de 200 génotypes ont déjà été mis en évidence.

Une seconde classification des HPV est basée sur leur tropisme tissulaire. On peut ainsi distinguer les génotypes d'HPV à tropisme préférentiel cutané (dits « HPV cutanés ») et les génotypes d'HPV à tropisme préférentiel muqueux (dits « HPV muqueux »). Cette distinction n'est pas toujours absolue, certains types d'HPV n'ayant pas de tropisme strict pour la peau ou les muqueuses. Les HPV cutanés appartiennent surtout aux genres bêta et gamma-papillomavirus, alors que les HPV muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus (Figure 1).

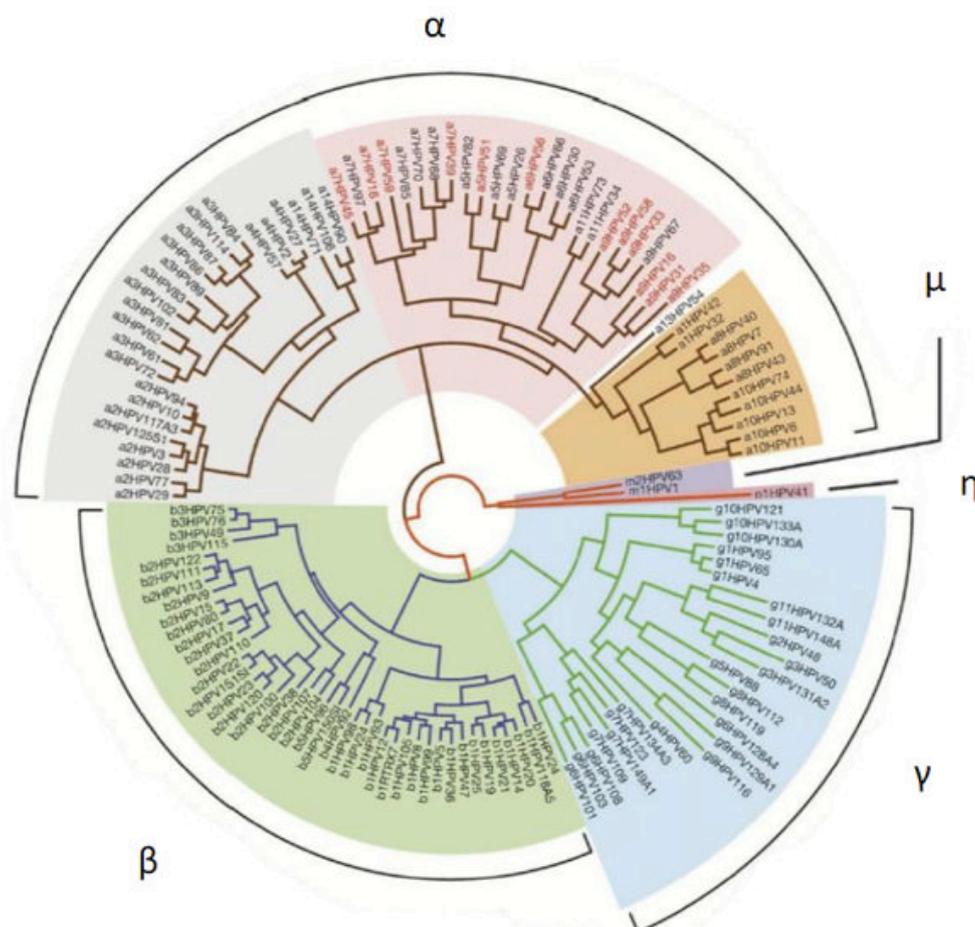


Figure 1. Arbre phylogénétique des HPV (Doorbar et al, 2012).

En rouge : HPV à haut risque du groupe I dont HPV16 (α -7) et HPV18 (α -9).

Les HPV peuvent également être classés en fonction de leur pouvoir oncogène. Il faut noter que cette classification prend en considération principalement des HPV à tropisme muqueux, car elle est basée sur le risque de cancer du col de l'utérus associé à HPV. Une première classification distinguait des HPV à haut risque (HR) oncogène, des HPV à risque oncogène intermédiaire et des HPV à bas risque (BR) oncogène. Par la suite, l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) les a classés dans 4 groupes, comme pour les autres carcinogènes, selon leur risque oncogène : oncogènes, probablement oncogènes, possiblement oncogènes et inclassables quant à leur potentiel oncogène (Tableau I).

Niveau de risque	Génotypes HPV muqueux	Génotypes HPV cutanés
1 (oncogènes)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	
2A (probablement oncogènes)	68	
2B (possiblement oncogènes)	26, 53, 66, 67*, 70, 73, 82, 30*, 34*, 69*, 85*, 97*	5, 8 (chez les patients atteints d'une épidermodysplasie verruciforme)
3 (non classables quant à leur potentiel oncogène chez l'homme)	6, 11	HPV des genres bêta (sauf 5 et 8) et gamma

*Classés dans le groupe 2B du fait de leur analogie phylogénétique avec les HPV du groupe 1.

Tableau I. Classification des HPV selon l'IARC, dernière mise à jour 7 avril 2015.

Ainsi, les HPV HR principaux correspondent aux HPV des groupes 1 et 2A, les premiers étant dits « oncogènes » (avec en particulier les HPV 16 et 18) et les seconds « probablement oncogènes ». Ces deux groupes sont impliqués dans 96 % des cancers du col de l'utérus, les HPV 16 et 18 représentant à eux deux plus de 70% des cas (HPV 16 étant responsable de 50% des cas à lui tout seul). Le groupe 2B (« possiblement oncogènes ») contient des HPV classés auparavant comme HR (comme HPV 66 et 82), probablement HR ou à risque intermédiaire (comme HPV 26 et 53) et BR comme HPV 70. Les HPV 6 et 11, classés dans le groupe 3 et principaux responsables des condylomes acuminés, sont considérés comme des HPV BR.

3. Caractéristiques virologiques générales des HPV : structure du génome et protéines virales (pour revues Doorbar *et al*, 2012 ; Mighty et Laimins, 2014)

Les HPV sont des virus nus, de petite taille, mesurant 45 à 55 nm de diamètre et possédant une capsidie à symétrie cubique constituée de 72 capsomères en structure icosaédrique. Leur génome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire circulaire d'environ 8000 paires de bases dont les séquences codant pour les protéines virales sont regroupées sur un seul brin avec différents cadres ouverts de lecture ou ORF (*Open Reading Frame*) qui se chevauchent.

Les HPV ont une organisation génétique commune en trois régions (Figure 2) : une région de régulation non codante LCR (*Long Control Region*) ou URR (*Upstream Regulatory Region*), une région E (*Early*) codant pour des protéines régulatrices ou impliquées dans la réplication de l'ADN (E1 à E7) et une région L (*Late*) codant pour les protéines de capsidie (L1 et L2).

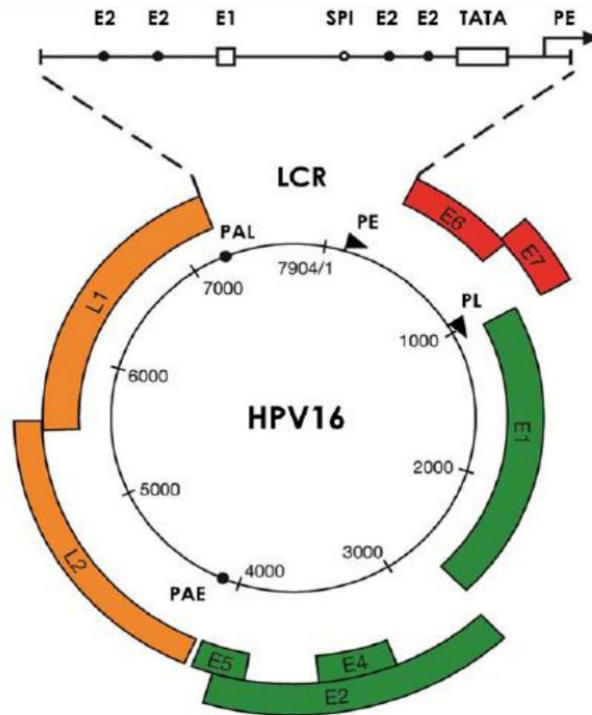


Figure 2. Organisation du génome HPV16, d'après Doorbar *et al* (2012).

PE : Promoteur précoce ou p97, PL : Promoteur tardif ou p670, PAE : Polyadénylation précoce, PAL : Polyadénylation tardive.

La région non codante LCR contient les promoteurs des gènes précoces (p97 pour HPV16 et p105 pour HPV18). En amont des promoteurs, elle comporte des séquences régulatrices de la réplication et de la transcription. C'est une région très variable constituée de 400 à 1000 nucléotides, soit environ 10 % du génome.

La région E (Early) représente 50 % du génome et code pour les protéines précoces E1 à E7 (Tableau II) impliquées dans la régulation ou la réplication de l'ADN.

La **protéine E1** est nécessaire à la réplication de l'ADN viral. Comprenant de 600 à 650 acides aminés (68 à 75 kilodalton ou kDa), elle est la seule enzyme produite par le virus. Elle possède une fonction hélicase, activité qui permet de séparer les deux brins d'ADN au niveau du site d'origine de la réplication, favorisant ainsi la mise en place d'un complexe d'initiation de la réplication, et une activité ATPase, essentielles à la réplication de l'ADN viral. Le rôle de E1 dans la réplication nécessite un couplage synergique avec la protéine E2. En effet, E1 n'a pas d'affinité spécifique pour l'ADN et c'est son association avec la protéine E2 qui lui permet, via la formation d'hétérodimères E1-E2, de se fixer de façon préférentielle au niveau de l'origine de la réplication pour exercer son activité hélicase. Une mutation dans le site de liaison à E1 (*E1 binding site*, E1BS), ou des mutations des protéines E1 et/ou E2 s'accompagnent d'une diminution voire d'un arrêt de la réplication virale.

La **protéine E2**, constituée de 400 acides aminés environ (50 kDa), est impliquée à la fois dans la réplication et dans la modulation de la transcription virale. L'activation de la réplication nécessite comme précisé auparavant une interaction synergique avec la protéine E1. La protéine E2 se

comporte aussi comme un facteur trans-inhibiteur en se liant à des sites situés à proximité de la boîte TATA des promoteurs p97 d'HPV16 et p105 d'HPV 18, provoquant un encombrement stérique au site d'initiation de la transcription et réprimant ainsi l'expression des oncoprotéines E6 et E7. Elle joue aussi un rôle de régulation négative dans la transformation cellulaire et dans l'apoptose.

La **protéine E3** n'est produite que par de très rares HPV et sa fonction reste inconnue.

La **protéine E4**, qui est codée par une région du génome ayant une grande diversité, est une protéine cytoplasmique modifiant la structure de la kératine. La principale protéine E4 (17kDa) est traduite à partir d'un ARNm E1^{E4}. Bien que codée par un gène précoce, E4 est exprimée plus tardivement et en abondance. Son expression a lieu approximativement en même temps que l'amplification du génome viral, précédant ainsi celle des protéines tardives L1 et L2. La protéine E1^{E4} est ensuite clivée en structures multimériques qui lient les cytokératines et favorisent la destruction du cytosquelette, particulièrement dans les couches superficielles de l'épithélium infecté. Ainsi, la protéine E4 participe à la production de particules virales, en facilitant l'encapsidation du génome et en favorisant la diffusion et la libération des virions accumulés par destruction du réseau de filaments de cytokératine.

La **protéine E5** est une petite protéine hydrophobe de 8 à 10 kDa, localisée au niveau des systèmes endomembranaires cellulaires. C'est l'une des trois oncoprotéines codées par le virus, qui est exprimée au stade précancéreux mais généralement pas dans les lésions cancéreuses. Elle est surtout exprimée par les HPV oncogènes ou HR (Schiffman *et al*, 2005). Ses fonctions ne sont pas parfaitement connues à ce jour mais elle participerait à la réplication de l'ADN viral et à la transformation. En effet, la protéine E5 d'HPV16 se lie à la sous-unité de 16kDa de l'ATPase H⁺ vacuolaire qui interfère avec l'acidité des endosomes (Disbrow *et al*, 2005) et par conséquent augmente le recyclage à la membrane plasmique du récepteur à l'EGF (EGFR, *Epidermal Growth Factor Receptor*) et au PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*), et leur activité. De plus, la protéine E5 induit une diminution de la reconnaissance de la cellule infectée par le système immunitaire de l'hôte. Elle interagit avec la chaîne lourde du CMH I (complexe majeur d'histocompatibilité de classe I) dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, réduisant son expression à la surface de la cellule et donc la présentation des antigènes viraux (Ashrafi *et al*, 2006).

Les **protéines E6 et E7** jouent un rôle clé puisqu'elles sont nécessaires au cycle viral productif et à la transformation cellulaire induite par les HPV HR. Leur expression est partiellement contrôlée par la protéine E2. Ce sont les seules protéines virales constamment exprimées dans le cancer du col utérin. Elles interagissent avec de nombreuses protéines et des voies de signalisation et de régulation cellulaires. L'une des principales cibles de la protéine E6 des HPV HR est la protéine p53, qui possède

une fonction de régulation négative du cycle cellulaire. En cas de dommage de l'ADN, elle peut provoquer un arrêt de du cycle cellulaire permettant une réparation de l'ADN lésé. En cas de dommages trop importants, la protéine p53 peut induire l'apoptose, évitant la propagation de ces altérations aux générations suivantes de cellules. La protéine E6 des HPV HR induit la dégradation de p53 par le protéasome, alors que celle des HPV BR réduit seulement son activité.

De son côté, la protéine E7 a pour fonction, dans le cycle viral productif, de favoriser le passage de la phase G1 à la phase S, permettant la réplication du génome dans les cellules suprabasales. La protéine E7 des HPV HR interagit avec la protéine pRb, dont le rôle principal est de bloquer le passage de la cellule de G1 à S en se liant au facteur de transcription pRb. E7 favorise sa liaison à la calpaïne qui dégrade partiellement pRb, provoquant sa dégradation par le protéasome.

L'action conjointe de ces deux protéines oncogènes entre donc dans le mécanisme de carcinogénèse puisqu'elles sont impliquées dans la perte de commande de la régulation du cycle cellulaire, l'immortalisation, la transformation cellulaire et le maintien du phénotype transformé. Le rôle des oncoprotéines virales E6 et E7 sera plus développé dans le chapitre « oncogénèse virale ».

Protéines virales	Caractéristiques et fonctions
E1	Hélicase. Contrôle de la réplication virale
E2	Régule négativement le promoteur du gène précoce, et, avec E1, la réplication de l'ADN viral
E4	Peut participer à la libération des particules virales en déstabilisant le réseau de cytokératine
E5	Stimule les signaux mitotiques des facteurs de croissance
E6	Inactive de nombreuses protéines cellulaires dont p53. Oncoprotéine virale majeure
E7	Inactive de nombreuses protéines cellulaires dont pRb. Oncoprotéine virale majeure
L1	Protéine majeure de capsid. Se trouve dans la composition de vaccins dirigés contre HPV
L2	Protéine mineure de capsid. Favorise l'encapsidation de l'ADN viral.

Tableau II. Protéines virales et leurs principales fonctions, d'après Tommasino (2014).

La région L (*Late*) code pour les protéines tardives de capsid L1 et L2 (Tableau II).

La **protéine L1** est la protéine majeure de capsid. De structure hautement conservée entre les papillomavirus, elle porte les antigènes spécifiques de genre et certains antigènes spécifiques de type. Sa capacité d'auto-assemblage pour former des pseudo-particules virales (*viral like particles*, VLP) constitue la base des vaccins. Les VLP possèdent notamment des épitopes conformationnels communs avec la capsid native et sont hautement immunogènes, tout en étant non infectieuses. Elles sont également une source d'antigènes pour le développement de tests sérologiques ELISA non commercialisés à ce jour.

La **protéine L2** est la protéine mineure de capsid. Associée à la protéine L1, elle permet l'assemblage du virus et la stabilisation de la capsid.

4. Histoire naturelle des infections à HPV

4.1. Modes de contamination

Le virus peut se transmettre par contact direct par voie sexuelle, par voie buccale ou par auto-inoculation (lésions de grattage), mais également par contact indirect, via des surfaces ou des objets contaminés (comme les vêtements par exemple) de par sa résistance dans le milieu extérieur.

La voie classique de transmission des papillomavirus muqueux est la voie génitale. C'est l'infection sexuellement transmissible (IST) la plus fréquemment rencontrée. La contamination a lieu très tôt après les premiers rapports sexuels, ce sont les jeunes femmes qui sont le plus souvent contaminées. Les femmes acquièrent l'HPV lors de relations sexuelles avec un partenaire infecté : la prévalence est donc importante autour des premiers rapports, lorsque l'exposition est élevée en l'absence d'immunité. Ainsi, la prévalence de l'infection à HPV évolue inversement à l'âge de la patiente. Le taux est maximal chez les jeunes filles de moins de 20 ans ayant une activité sexuelle (jusqu'à 70%) et diminue progressivement pour atteindre environ 7,5% des patientes de plus de 50 ans (Moscicki *et al*, 2010). Un deuxième pic de prévalence peut être mis en évidence autour de 50 ans dans certaines études. Une contamination verticale au cours de l'accouchement est aussi décrite, l'enfant pouvant alors rarement présenter une papillomatose laryngée, conjonctivale ou anogénitale.

4.2. Cycle viral

Les HPV sont des virus spécifiques d'espèces et ont un tropisme particulièrement marqué pour les épithéliums malpighiens, qui sont les seuls permissifs à l'infection. Ces épithéliums malpighiens sont situés au niveau cutané (couche de l'épiderme), au niveau des voies aérodigestives supérieures (VADS) (cavité buccale, pharynx, œsophage, moitié supérieure du larynx), du canal anal et de l'appareil génital. Les HPV infectent l'épithélium en pénétrant à la faveur de microlésions dans les cellules de la couche basale. Au niveau du col de l'utérus, cette pénétration est facilitée au niveau de la zone de jonction entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol, qui est particulièrement vulnérable (voir chapitre III).

L'attachement des particules virales est réalisé principalement par l'intermédiaire de récepteurs de la famille des intégrines et des héparanes sulfates présents à la surface des cellules de la membrane basale exposée suite à un microtraumatisme. L'entrée dans la cellule se fait ensuite par endocytose, médiée par des vésicules à clathrine (HPV16 ou 18) ou par des cavéoles (HPV31).

Le cycle viral est ensuite étroitement lié à l'état de différenciation des cellules épithéliales. Les protéines virales sont synthétisées de façon séquentielle dans l'épithélium infecté selon la différenciation cellulaire (Figure 3).

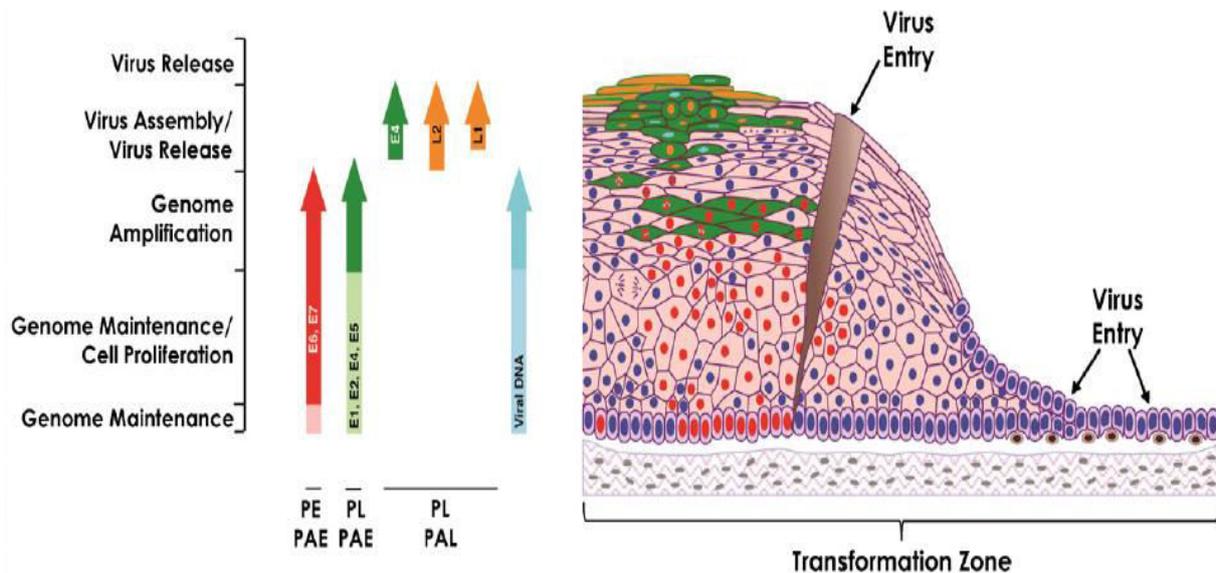


Figure 3. Cycle viral des HPV HR dans l'épithélium cervical (Doorbar *et al*, 2012).

Après la décapsulation du virus, l'ADN viral migre dans le noyau du kératinocyte où il va y avoir une phase de maintien de l'épisome viral. Le virus et la cellule reproduisent leur génome en même temps, les protéines E1 et E2 contrôlant la réplication du génome viral par les enzymes cellulaires et le maintien à un taux modéré (de l'ordre de 50 à 100 copies) du génome viral dans les cellules filles des couches basales et suprabasales (Stanley *et al*, 2012).

Les HPV contrôlent l'expression des protéines virales de façon très fine. Les protéines E6 et E7 sont ainsi exprimées à des taux faibles assurant le maintien de ces cellules suprabasales en phase de synthèse d'ADN (phase S via E7) tout en évitant leur apoptose (via E6).

La phase de maintien est suivie d'une phase d'amplification du génome dans les couches suprabasales. Dans les couches plus superficielles de l'épithélium, les gènes codant pour les protéines L1 et L2 sont exprimés, aboutissant à l'assemblage de milliers de particules virales et à l'encapsulation de l'ADN viral. La protéine E4, synthétisée tardivement, est responsable des modifications du cytosquelette de la cellule hôte associées au trafic intracellulaire des constituants viraux. Les particules virales seront libérées par les cellules desquamatives. Ces virus peuvent alors se propager au niveau du même ou d'autres épithéliums sains du même individu voire être transmis à une autre personne par contact direct ou indirect.

L'effet cytopathique caractéristique d'une infection productive à HPV est la présence de koilocytes dans les couches superficielles ou intermédiaires. Ils correspondent à des cellules épithéliales squameuses présentant un noyau œdémateux, agrandi et à la chromatine irrégulière, ainsi qu'une vacuole intra cytoplasmique péri-nucléaire refoulant le cytoplasme vers l'extérieur (Figure 4). La présence de telles cellules est quasiment un signe pathognomonique. Les conséquences d'une

infection persistante sont reflétées par des changements nucléaires de plus en plus sévères selon le grade de la lésion concerné, avec des figures de mitose et des bouquets de cellules pycnotiques.

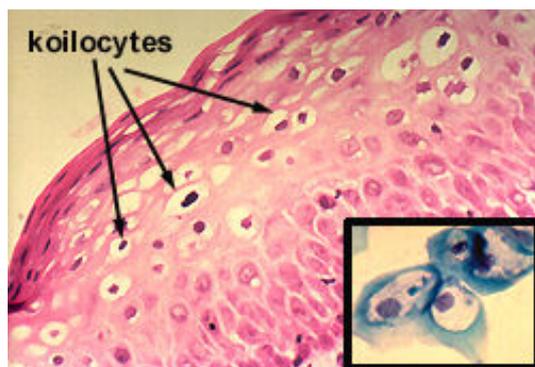


Figure 4. Koilocytes (medsci.indiana.edu)

4.3. Evolution de l'infection

Les infections à HPV peuvent être productives ou abortives, latentes avec des réactivations possibles lors d'épisodes d'immunodépression par exemple (Figure 5).

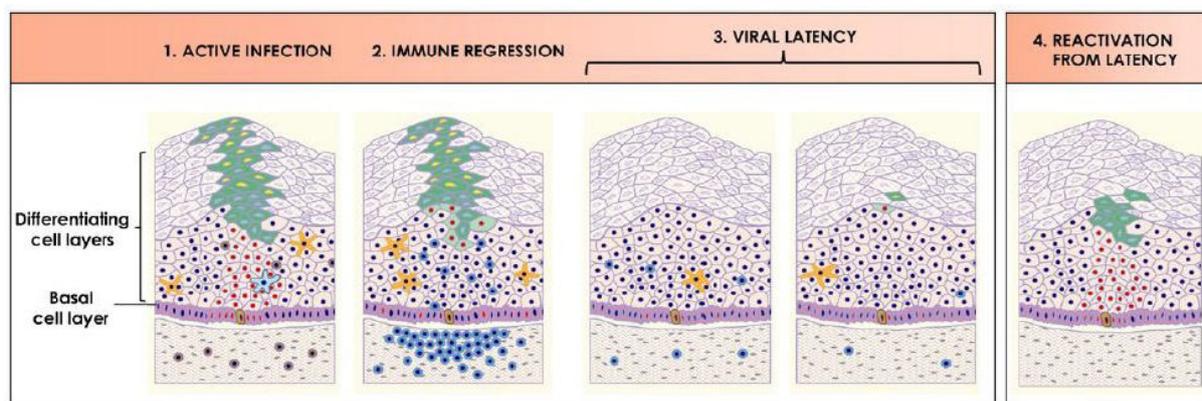


Figure 5. Infection active, clairance, latence et réactivation (Doorbar *et al*, 2012).

Les infections productives sont dans la majorité des cas bénignes, transitoires et spontanément résolutive avec une guérison d'environ 70% à 1 an et 90% à 2 ans, suite à la mise en place d'une réponse immunitaire efficace (Moscicki *et al*, 2006 ; Veldhuijzen *et al*, 2010). On parle alors de clairance virale qui aboutit à la guérison spontanée de l'infection. Au niveau du col de l'utérus, environ 10 % des infections sont persistantes.

5. Oncogénèse virale

Les connaissances sur l'oncogénèse virale liée aux HPV reposent principalement sur des études effectuées sur le modèle du cancer du col de l'utérus (pour revues Mighty et Laimins, 2014 ; Tommasino, 2014). L'oncogénèse est essentiellement portée par les protéines virales oncogènes E6 et E7. L'augmentation de l'expression de leurs gènes est primordiale, en particulier dans les couches basales de l'épithélium infecté. E6 et E7 sont constamment exprimées dans les cellules tumorales. E5 possède aussi des propriétés transformantes, mais cette protéine n'est pas indispensable pour la

transformation et le maintien du phénotype transformé. E6 et E7 interagissent avec de multiples protéines cellulaires impliquées dans plusieurs voies de signalisation, notamment des protéines impliquées dans le cycle cellulaire, l'apoptose, la réponse immunitaire et l'angiogenèse. Par leurs multiples interactions, E6 et E7 induisent une prolifération, une immortalisation cellulaire, l'installation d'une instabilité chromosomique favorisant la transformation cellulaire (Figure 6).

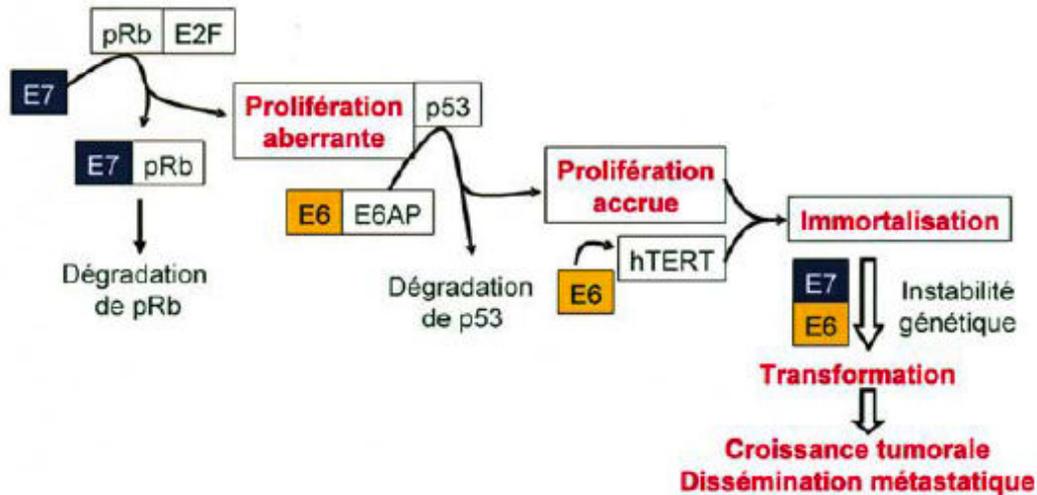


Figure 6. Principales étapes de la carcinogenèse associée à E6 et E7 des HPV HR, d'après Munger (2004).

Deux des cibles majeures de E6 et E7 sont les protéines suppresseurs de tumeur pRb et p53. La protéine E7 des HPV HR se lie avec une forte affinité à la protéine pRb et facilite sa dégradation via le protéasome. Cela permet notamment de libérer les facteurs de transcription E2F/DP de l'action inhibitrice de pRb qui stimulent l'entrée en phase S du cycle cellulaire bénéfique au cycle viral productif. La protéine E7 est aussi capable d'activer les complexes cycline E/CDK2 (CDK : kinase dépendante des cyclines), impliqués dans le passage du point de restriction R du cycle cellulaire et la phase G1 tardive, et cycline A/CDK2, impliqués dans la transition G1/S et la progression dans S. Par ailleurs, la protéine E7 est capable de lier et d'inactiver les inhibiteurs de CDK (CKI) p21^{Cip1} et p27^{Kip1}, qui ne peuvent plus inhiber l'activité des complexes cycline/CDK. La surexpression d'E7 entraîne aussi l'expression de la CKI p16^{INK4a} considérée, dans le cadre des infections par HPV, comme un marqueur indirect de l'expression de E7.

La protéine E6 des HPV HR se lie avec une forte affinité la protéine p53 et favorise son hydrolyse par le protéasome en recrutant E6-AP (*E6-Associated Protein*), une ubiquitine ligase cellulaire dont p53 n'est pas une cible physiologique. La dégradation de p53 va permettre à la division cellulaire de se poursuivre car l'expression des protéines cibles de p53, impliquées dans l'arrêt en phase G1 (comme p21^{Cip1}) ou induisant l'apoptose (comme Bax et Bak), est réprimée. La protéine E6 possède également un motif « PDZ –ligand » capable de se lier au domaine « PDZ » de nombreuses protéines impliquées notamment dans la polarité, la migration et le contrôle de la croissance des cellules, ce qui induit leur dégradation. E6 est aussi capable d'activer, en association avec la protéine E6AP, la télomérase, en augmentant l'expression de sa sous-unité catalytique (hTERT : *human telomerase*

reverse transcriptase), qui joue un rôle important dans l'immortalisation cellulaire en maintenant la longueur des télomères au cours des divisions cellulaires successives.

La progression vers le cancer s'accompagne le plus souvent de l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN de la cellule hôte. Elle est fréquente mais inconstante et variable selon les génotypes. Cette intégration peut avoir lieu dans de nombreux sites cellulaires aspécifiques, mais elle est plus fréquente dans certains sites fragiles dits *hot spots*, dont une dizaine ont récemment été décrits comme fréquents (Zu *et al*, 2015). La sélection des intégrants est ensuite faite selon les avantages conférés à la cellule. Il en résulte une délétion des gènes viraux essentiels pour la synthèse de virions infectieux mais une conservation de *E6*, *E7* et *URR*. Le site de coupure dans le génome viral est variable mais une interruption de *E2* induit la levée de l'inhibition qu'elle exerce sur l'expression de *E6* et *E7*. La perte de *E2*, par coupure ou par méthylation, est un évènement important sans l'oncogène.

6. Infections par HPV : épidémiologie et lésions associées

Les HPV sont des virus ubiquitaires et relativement bien adaptés à leur hôte. Ils sont dits épithéliotropes car les infections liées à HPV touchent l'épithélium stratifié de la peau ou des muqueuses, selon les génotypes incriminés. La grande majorité des lésions décrites sont localisées sur trois territoires : soit au niveau de la peau, soit au niveau anogénital, soit au niveau des VADS (voies aéro-digestives supérieures) (Tableau III).

Lésion	Principaux types d'HPV associés	
Verrues communes	HPV 2, 4, 7	
Verrues plates	HPV 3, 10, occasionnellement HPV 26 à 29 et 41	
Verrues plantaires	HPV 1, 2, 4	
Epidermodysplasie verruciforme	Verrues planes	HPV 3, 10
	Plaques pytiriasis-like	HPV 5, 8
	Carcinomes de la peau exposée au soleil	HPV 5, 8
Verrues anogénitales	Condylomes	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 71, 72, 81, 89
	Tumeur de Buschke Lowenstein (ou condylome acuminé géant)	HPV 6
	Papulose bowénoïde	HPV 16, 55
Pré-cancers et cancers anogénitaux	Groupe 1 (oncogènes)	HPV 16, 18, 31, 33, 45, 51, 52
	Groupe 2A (probablement oncogènes)	HPV 68
	Groupes 2B (possiblement oncogènes)	HPV 26, 53, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 83
Lésions orales	Papillomes oraux	HPV 2, 6, 7, 11, 16, 18, 32, 57
	Papillomes laryngés	HPV 6, 11
	Hyperplasie focale (maladie de Heck)	HPV 13, 32
	Cancer oropharyngé	HPV 16 ++, 18

Tableau III. Types d'HPV et lésions associées, d'après Cubie (2013).

Les infections peuvent être cliniques ou infracliniques, symptomatiques ou non.

6.1. HPV et cancer

Les lésions associées aux HPV HR sont généralement bénignes mais une part non négligeable d'infections peut aboutir à un cancer. Les cancers liés à HPV représentent en effet 5% de la totalité des cancers et augmentent pour certains d'entre eux (Stanley, 2012). Les HPV sont responsables de cancers au niveau de plusieurs sites anatomiques chez les hommes et chez les femmes : cancer du col de l'utérus (abordé dans le chapitre III), oropharyngé, anal, vulvaire et vaginal chez la femme ; cancer oropharyngé, anal et du pénis chez l'homme. La proportion de cancers attribuables aux HPV varie suivant le site anatomique (Tableau IV). Le cancer du col de l'utérus est le cancer attribuable aux HPV le plus fréquent, suivi par le cancer anal.

Cancer	Localisation	Part due à HPV
Cancer du col de l'utérus	Monde	100%
Cancer pénien	Monde	50%
Cancer anal	Monde	88%
Cancer vulvaire	Monde	43%
Cancer du vagin	Monde	70%
Cancer de l'oropharynx	Amérique du Nord	56%
	Europe du Nord et de l'Ouest	39%
	Europe de l'Est	38%
	Europe du Sud	17%
	Australie	45%
	Japon	52%
	Reste du monde	13%

Tableau IV. Cancers attribuables aux HPV, d'après De Martel *et al* (2012).

6.2. HPV et peau

Les lésions cutanées à HPV sont essentiellement dues à des HPV β et sont représentées par les verrues cutanées aux aspects cliniques très variés (Figure 7) : elles peuvent correspondre à des papules de taille plus ou moins grande, à une hyperkératose simple ou à des lésions exophytiques type chou-fleur fissurées. Elles sont très contagieuses et très répandues à travers le monde. La prévalence varie suivant les populations et les âges, mais elle est plus élevée chez les enfants et adolescents (de l'ordre de 3 à 5% ; Williams *et al*, 1993). Chez les enfants, la ré-infection et l'auto-inoculation sont fréquentes, et la transmission entre individus est favorisée notamment grâce aux jeux de contact. Les infections cutanées à HPV sont généralement bien contrôlées par le système immunitaire et leur disparition spontanée est fréquente : chez les enfants, 80% d'entre elles guériraient spontanément en 2 ans (Sterling *et al*, 2001).

Sur le plan histologique, les verrues sont des lésions bénignes caractérisées par une acanthose, une papillomatose et une hyperkératose, souvent accompagnées de granules de kératohyaline anormale. Les verrues communes (Figure 7) sont le plus souvent causées par HPV2 alors que les lésions

punctiformes habituellement décrites sur la paume des mains sont plus souvent associées à HPV4. HPV7 est responsable de verrues associées à la macération due à l'humidité et au froid ainsi qu'aux verrues florides chez l'immunodéprimé.



Figure 7. Verrues communes de la main dues à HPV (Cubie *et al*, 2012).

Les verrues planes (HPV3, 10 ou 28) sont petites et moins rugueuses, avec un aspect sous forme de papules à sommet plat, de couleur chair ou légèrement pigmentée, en particulier sur les zones exposées à la lumière sur la face et le dos des mains.

Les verrues plantaires se produisent rarement avant l'âge de 5 ans et ont un pic de fréquence vers 10-14 ans. Elles surviennent souvent lors d'activités pratiquées pieds nus ou chez les personnes exerçant des activités causant la macération de la peau (danse, natation, etc). Les verrues plantaires causées par HPV1 sont profondes, alors que celles dues aux HPV4 et 2 sont plutôt superficielles et ont tendance à être moins douloureuses, plus persistantes et plus difficiles à guérir par traitement.

L'épidermodysplasie verruciforme, maladie autosomique récessive rare, est caractérisée par une infection cutanée chronique disséminée à HPV. Elle est associée à une mutation d'un des deux gènes EVER1 ou EVER2 sur le bras long du chromosome 17 (Ramos *et al*, 2002). Les gènes EVER codent pour deux protéines transmembranaires intervenant dans l'homéostasie du Zinc. Leur perte améliore l'expression des gènes viraux E6 et E7 (Lazarczyk *et al*, 2009). Les lésions, surtout celles exposées au soleil, sont susceptibles d'évoluer en carcinomes. HPV5 et 8 sont responsables de 90% de ces tumeurs.

6.3. HPV et lésions ano-génitales

Les infections des muqueuses associées aux HPV α sont plus fréquentes et sont le plus souvent asymptomatiques. L'infection à HPV est l'une des IST les plus fréquentes au monde. Près de 80% des hommes et des femmes sexuellement actifs seraient exposés aux HPV, le plus souvent peu de temps après le début de leur vie sexuelle (Stanley, 2006). Cela aboutit à un pic d'incidence et de prévalence avant l'âge de 25 ans, en raison des facteurs comportementaux et biologiques.

6.3.1. Les condylomes acuminés

Les condylomes acuminés ou verrues génitales (Figure 8), également appelés communément « crêtes de coq », correspondent à l'IST la plus commune avec une augmentation de l'incidence ces dernières années et un taux de transmission estimé entre partenaires de l'ordre de 60% (Woodhall *et al*, 2008). Plus de 90% des condylomes acuminés sont associés aux HPV6 et 11 (HPV BR). Ce sont des petites lésions exophytiques bénignes mais récidivantes et très contagieuses se trouvant principalement au niveau des sites traumatisés au cours des rapports sexuels.



Figure 8. Verrues anogénitales (Cubie *et al*, 2012).

Dans les deux sexes, les HPV peuvent être détectés dans la zone du pubis, du périnée, de l'urètre et en territoire péri-anal. Il faut noter que l'infection chez les hommes circoncis est moins fréquente et généralement limitée à la hampe du pénis.

6.3.2. Les néoplasies intra-épithéliales cervicales (CIN)

Richart, en 1973, a introduit la notion de CIN, qu'il a divisées en trois groupes histologiques (CIN1, 2 et 3) de sévérité croissante selon la proportion et la hauteur de l'épithélium anormal. Comparée à un épithélium malpighien normal, une CIN est caractérisée par des perturbations architecturales caractérisées par des troubles de la différenciation cellulaire associés à des anomalies cytologiques (cellules moins différenciées, noyau plus volumineux). La différence se fait au niveau de la topographie et du niveau d'atteinte de l'épithélium par HPV. Les CIN1 se cantonnent uniquement au tiers inférieur de l'épithélium, les CIN2 s'étendent jusqu'aux deux tiers de l'épithélium alors que les CIN3 concernent la totalité de l'épaisseur de l'épithélium (Tableau V). Les CIN3 incluent également les carcinomes *in situ*. Les lésions de haut grade englobent les CIN2 et les CIN3, d'où l'utilisation du terme CIN2+. La koïlocytose s'observe très fréquemment dans les CIN1 et se voit volontiers à la surface des CIN2, mais elle est rarement visualisée dans les CIN3 du fait de l'absence de cellules différenciées.

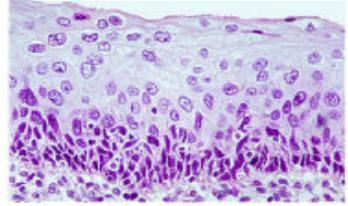
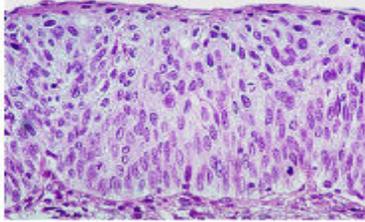
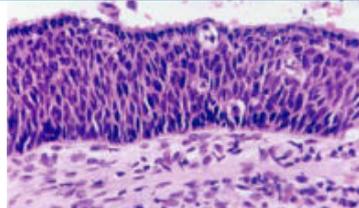
LESION	CIN	HISTOLOGIE
Dysplasie légère (avec koïlocytose)	CIN1	
Dysplasie modérée	CIN2	
Dysplasie sévère Carcinome <i>in situ</i>	CIN3	

Tableau V. Classification des CIN selon Richart.

6.3.3. Autres localisations anogénitales

De la même façon, les infections à HPV touchant l'anus, la vulve, le vagin et le pénis peuvent être bénignes, avec notamment des condylomes acuminés, ou évoluer vers des lésions pré-cancéreuses voire cancéreuses. Ces pré-cancers associés à HPV sont également nommés selon le site de la lésion histologique observée: néoplasies intra-épithéliales vulvaires et vaginales (respectivement VIN et VAIN), péniennes (PIN) ou anales (AIN). L'incidence du carcinome anal, associé aux HPV dans 88 % des cas, est en augmentation, notamment chez les hommes homosexuels et chez les sujets infectés par le VIH (Palefsky and Rubin, 2009).

6.4. HPV et VADS

En dehors de la sphère génitale, les HPV sont responsables d'infections des VADS dont l'histoire naturelle est mal comprise (pour revue Beby-Defaux *et al*, 2011). En plus des manifestations bénignes (papillomes, verrues ou condylomes) qui leur sont imputées, les HPV HR sont également impliqués dans 25% des cancers de l'oropharynx en moyenne et dans au moins 50% des cancers de l'amygdale. HPV16 est le génotype responsable dans près de 90% de ces cancers. Les cancers de l'oropharynx associés aux HPV surviennent chez des sujets généralement plus jeunes, sans facteur de risque classique (tabac et alcool) mais sont associés à des facteurs de risque d'IST (comme le nombre de partenaires cumulés et les contacts orogénitaux). Ils sont de meilleur pronostic que les cancers oropharyngés non associés aux HPV.

7. Méthodes de détection des HPV

Le diagnostic virologique des infections à HPV repose sur des techniques de biologie moléculaire. A ce jour, près de 200 tests moléculaires permettant la recherche des acides nucléiques des HPV HR sont commercialisés dans le monde. On les appelle communément « tests HPV ». Face au développement récent de ces techniques dont le nombre croit très rapidement, il apparaît compliqué de toutes les comparer mais des critères de performances cliniques ont été proposés (pour revue, Poljak *et al*, 2016). D'autres moyens de détection par des marqueurs indirects sont également proposés pour le dépistage des HPV HR comme le double immuno-marquage p16/Ki67 par immunohistochimie.

Ces tests sont conçus pour détecter des infections par HPV HR au niveau du col de l'utérus. Le résultat de la recherche des HPV HR par test HPV est un résultat qualitatif ou semi-quantitatif, qui ne décrit que la présence ou l'absence d'une infection par un HPV HR à un instant *t*. La détection d'un HPV HR ne signifie pas qu'il y a obligatoirement des lésions précancéreuses ou cancéreuses au niveau du col, les infections transitoires étant très fréquentes. Cependant, la sensibilité et la spécificité cliniques pour détecter des lésions de haut grade (CIN2+) ont été déterminées pour certains tests et c'est maintenant une recommandation internationale pour valider cliniquement un nouveau test.

Les tests HPV reposent sur des principes multiples et présentent des formats de détection différents : détection en pool, détection avec génotypage partiel, détection avec génotypage complet (Poljak *et al*, 2016). Les techniques les plus largement utilisées sont les trousse permettant de détecter les ADN/ARN des HPV dont le spectre englobe au moins les 13/14 génotypes d'HPV HR les plus oncogènes (HPV des classes 1, 2A ± HPV66).

7.1. Réalisation des tests HPV

L'ensemble du processus de détection des HPV respecte un système de management et d'amélioration continue de la qualité, afin de garantir la qualité et la fiabilité des résultats.

La détection d'HPV peut être réalisé par :

- Les biologistes médicaux, soumis aux exigences de la norme NF EN ISO 15189
- Les anatomo-cytopathologistes, pour lesquels existent des recommandations de bonnes pratiques établies par l'association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques (AFAQAP), qui préconisent de suivre les directives de la norme la norme NF EN ISO 15189 pour les examens faisant appel aux techniques de biologie moléculaire.

Dans les deux cas, la qualité des pratiques doit être évaluée par des contrôles de qualité internes et externes.

7.2. Critères de choix des tests HPV

Seules les trouses dont les performances cliniques pour les indications de dépistage et de prise en charge des lésions précancéreuses et cancéreuses du col ont été validées selon des critères établis par un groupe international d'experts (Meijer *et al*, 2009), et pour lesquelles il existe des preuves de fiabilité et de reproductibilité, devraient être utilisées dans la prise en charge clinique. La trousse choisie devrait avoir une sensibilité et une spécificité cliniques pour la détection des lésions histologiques CIN2+, supérieures à 90% et 98% respectivement par rapport à un test de référence, le test de capture d'hybrides HC2 (Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test, Qiagen), chez les femmes âgées de plus de 30 ans. Le test HC2, qui a été validé de façon extensive dans de nombreuses publications (études longitudinales randomisées).est désormais moins utilisé. D'autres tests ont été validés et peuvent aussi servir de référence (Arbyn *et al*, 2015). La spécificité clinique est essentielle pour minimiser un suivi inutile de femmes porteuses d'une infection transitoire, dont le test est positif au moment du dépistage mais qui ne développeront pas de lésion. C'est toute la problématique de la détection des HPV HR.

7.3. Trouses de détection sans génotypage

Ces trouses permettent la détection simultanée de plusieurs HPV HR mais pas leur génotypage, même partiel. Parmi les trouses appartenant à cette famille, les tests HC2 (Qiagen), Aptima®, Cervista® (Hologic) sont validés cliniquement (Tableau VI).

La capture d'hybride (test HC2) repose sur l'hybridation *in situ* en phase liquide de l'ADN d'HPV avec une sonde ARN complémentaire de la cible recherchée, parmi un mélange de 13 sondes spécifiques aux HPV HR de classe 1 et 2A. Ces hybrides sont reconnus par un anticorps anti-hybride ADN/ARN recouvrant les parois d'un micro-puits. Un second anticorps de même spécificité couplé à la phosphatase alcaline permet de révéler la formation des hybrides. La phosphatase réagit avec un substrat luminescent et la détection du signal s'effectue par chimiluminescence (Figure 9).

Il s'agit du plus ancien test validé par la *Food and Drug Administration* (FDA). Ce test est rapide, reproductible et applicable à de grandes séries mais il ne permet pas d'identifier les différents génotypes. Le rendu du résultat est qualitatif (absence ou présence d'HPV HR, sans précision du ou des génotypes mis en évidence) et le seuil de sensibilité est de 5000 copies/mL. En cas de test positif, Qiagen propose la possibilité de réaliser le test Probe Set®, indépendant de la trousse initiale, comme test de génotypage partiel (génotypage des HPV16, 18 et 45).

Le test HC2 est considéré comme le test de référence pour détecter les HPV HR, avec une spécificité clinique élevée pour la détection des CIN2+. Cependant, ce test ne comporte pas de témoin de cellularité et est de plus en plus supplanté par les nouveaux tests qui proposent souvent d'emblée un génotypage partiel simultané.

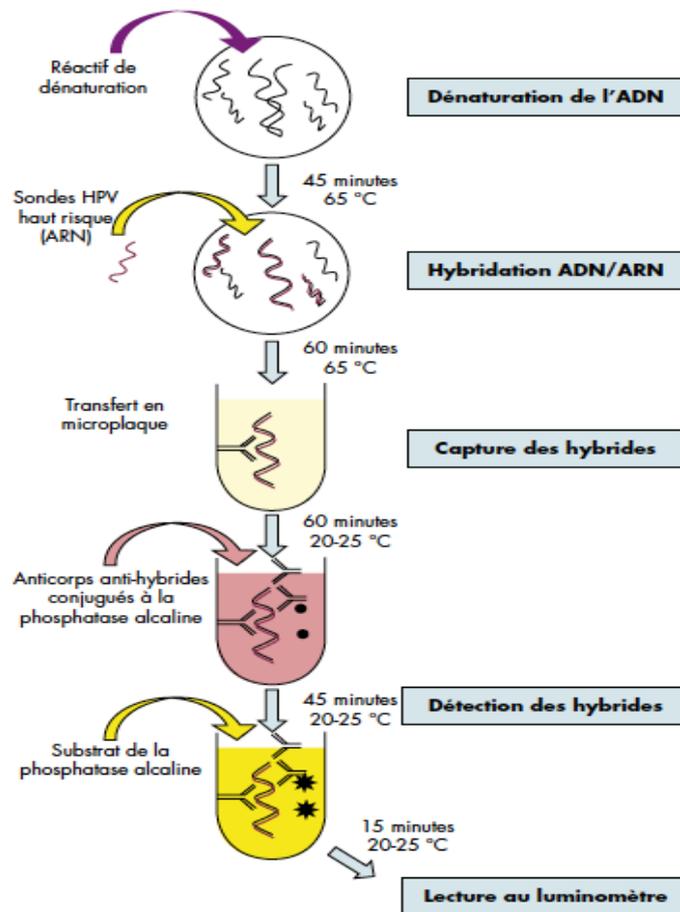


Figure 9. Principe de la technique par capture d'hybride (Hantz *et al*, 2010).

Le test Aptima HPV Assay® (Hologic) permet la détection globale de 14 types d'ARNm des protéines E6 et E7 (HPV de classe 1, 2A et HPV66). Cette approche, reflétant l'activité transcriptionnelle, devrait donc être plus performante pour dépister les femmes à risque d'évolution vers un cancer du col. Le principe de ce test utilise la technologie TMA, qui repose sur une amplification isotherme avec deux enzymes : la transcriptase inverse MMLV et l'ARN polymérase T7. Le test se déroule en trois étapes : capture de la cible, amplification TMA et détection des amplicons par le test de protection contre l'hybridation (*Hybridization Protection Assay*), via une sonde ADN spécifique marquée par un détecteur moléculaire chimioluminescent : l'ester d'acridinium.

Les performances des tests ARN en termes de valeur prédictive positive et spécificité semblent meilleures que celles des tests ADN (Cattani *et al*, 2009). Les résultats préliminaires de l'étude FASE (French APTIMA HPV Assay Screening Evaluation) réalisée sur plus de 5 000 femmes en France ont permis de mettre en évidence une augmentation de spécificité de 15 % pour la détection des CIN2 et de 20 % pour les CIN3 par rapport aux tests reposant sur la détection de l'ADN viral, tout en conservant la même sensibilité (Monsonogo *et al*, 2011). D'un point de vue technique, la principale limite de ces méthodes de détection est la qualité des ARNm dont l'intégrité doit être préservée.

Trousse	Matériel viral détecté	HPV HR recherchés	HPV HR génotypés
Aptima® (Hologic)	ARN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	/
Cervista® (Hologic)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	/
Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test™ (Qiagen)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68	(16, 18, 45)

Tableau VI. Trousses de détection sans génotypage.

7.4. Trousses de détection avec génotypage partiel concomitant

Parmi les trousse de cette catégorie commercialisées, les tests Real Time HR HPV (Abbott), Cobas® 4800 (Roche), Xpert HPV (Cepheid) et BD Onclarity HPV Assay (BD) sont validés cliniquement (Tableau VII).

Le test Cobas® 4800 permet la détection simultanée de 14 HPV HR après amplification PCR en temps réel avec détection à l'aide de sondes oligonucléotidiques soit spécifiques de type (HPV16 et HPV18), soit spécifiques d'un panel des 12 autres HPV HR marquées par des fluorophores différents. En parallèle un contrôle interne utilisant le gène de la β -globine est présent dans chaque réaction. Les performances de cette trousse ont été validées par une très large étude, l'étude ATHENA, qui a conclu que sa sensibilité et sa spécificité étaient comparables à celles du test HC2 pour la détection des lésions cervicales CIN2+ (Stoler *et al*, 2011), mais avec un plus faible taux de réactivité croisée avec les HPV BR (Lindermann *et al*, 2011 ; Cui *et al*, 2014). Le test Cobas 4800 HPV est approuvé par la FDA et cliniquement validé notamment pour le triage des cas de frottis ASC-US, avec l'avantage par rapport au test HC2 de pouvoir identifier séparément les génotypes 16 et 18 mais aussi d'avoir un contrôle cellulaire.

Le test RealTime High Risk HPV (Abbott) reprend le même principe que le test Cobas 4800 HPV et est validé cliniquement pour le dépistage primaire du cancer du col.

Le test Xpert HPV (Cepheid) permet de détecter les 12 HPV HR de classe 1 et de génotyper les HPV16 et 18. Cette trousse PCR, en plus de présenter un usage très facile et rapide, possède des performances similaires aux autres tests HPV validés pour détecter des lésions CIN2+ (Cuzick *et al*, 2015).

L'étude VALGENT (Arbyn *et al*, 2015), proposant de nouvelles méthodes de validation clinique des tests HPV, a permis de comparer les tests Real Time HR HPV, Cobas 4800 et BD Onclarity HPV Assay. Elle a confirmé la validité clinique des deux dernières méthodes. Toutes ces techniques présentent des sensibilités et spécificités élevées pour détecter des CIN2+.

Trousse	Matériel viral détecté	HPV HR recherchés	HPV HR géotypés
Real Time HR HPV (Abbott)	ADN	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	16 et 18
Cobas® 4800 (Roche)	ADN	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	16 et 18
Xpert HPV (Cepheid)	ADN	31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68	16 et 18/45
BD Onclarity HPV Assay (BD)	ADN	33, 35, 39, 56, 58, 59, 66, 68	16, 18, 31, 45, 51 et 52

Tableau VII. Principales trousse de détection avec géotypage partiel concomitant.

7.5. Trousses de détection et de géotypage

L'ensemble de ces tests représente le plus grand nombre des tests HPV commercialisés (Tableau VIII). Les tests permettant un géotypage complet utilisent de nombreux principes différents comme l'hybridation, la PCR en temps réel couplée à des fluorochromes, l'utilisation de puces ADN ou de microsphères voire l'utilisation de gels d'électrophorèse.

Le test Anyplex II HPV28® (Seegene) est un nouveau test multiplex avec une PCR en temps réel conçue pour détecter simultanément 28 géotypes d'HPV. Ce coffret est analytiquement plus sensible pour la détection des HPV HR que l'HC2 pour les 13 géotypes communs recherchés, et présente une concordance plus élevée avec le géotypage complet basé sur l'analyse de séquençage (Kwon *et al*, 2014). Il est adapté au géotypage d'HPV (Estrade and Sahli, 2014), et il vient d'être plus ou moins validé cliniquement (Hesselink *et al*, 2016). Cette technique a été utilisée pour notre étude.

Trousse	Matériel viral détecté	HPV HR géotypés	HPV possiblement HR	Autres HPV (BR)
Clart® HPV4 (Genomica)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	26, 53, 67, 70, 73, 82, 85	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 89
INNO-LiPA (Fujirebio)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	26, 53, 67, 70, 73, 82, 85	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 89
Linear Array® (Roche)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	26, 53, 67, 69, 70, 73, 82	6, 11, 40, 42, 44, 54, 61, 62, 64, 67, 70, 71, 72, 81, 83, 84, IS39, CP6108
Anyplex II HPV28 (Seegene - Eurobio)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	26, 53, 67, 69, 70, 73, 82	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61
PapilloCheck® (Greiner BioOne)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	53, 70, 73, 82	6, 11, 40, 42, 43, 44, 55

Tableau VIII. Principales trousse de détection et de géotypage.

8. Prévention des infections à HPV

8.1. Prévention vaccinale

8.1.1. Principe

Le cancer du col peut être prévenu grâce à la vaccination contre l'infection par certains génotypes d'HPV. Elle a pour objectif d'induire une production d'anticorps neutralisants dirigés contre HPV, aboutissant à une mémoire immunitaire permettant de lutter contre le virus plus rapidement en cas de contact. Actuellement, deux vaccins prophylactiques sont commercialisés en France : Gardasil® (Merck, commercialisé en France par Sanofi Pasteur MSD) et Cervarix® (GlaxoSmithKline).

La base de ces vaccins repose sur la propriété d'auto-assemblage de la protéine majeure de capsid L1. L'introduction du gène de la protéine L1 au sein de cellules eucaryotes aboutit à la production de pseudo-particules virales VLP, ayant un fort potentiel immunogène car possédant les mêmes épitopes, notamment les épitopes conformationnels, que la capsid native, mais non infectieuses car dénuées de matériel génétique. Les cellules eucaryotes utilisées pour la fabrication de ces vaccins ont des origines différentes :

- cellules d'insectes infectés par des Baculovirus recombinants pour Cervarix®
- *Saccharomyces cerevisiae* pour Gardasil®

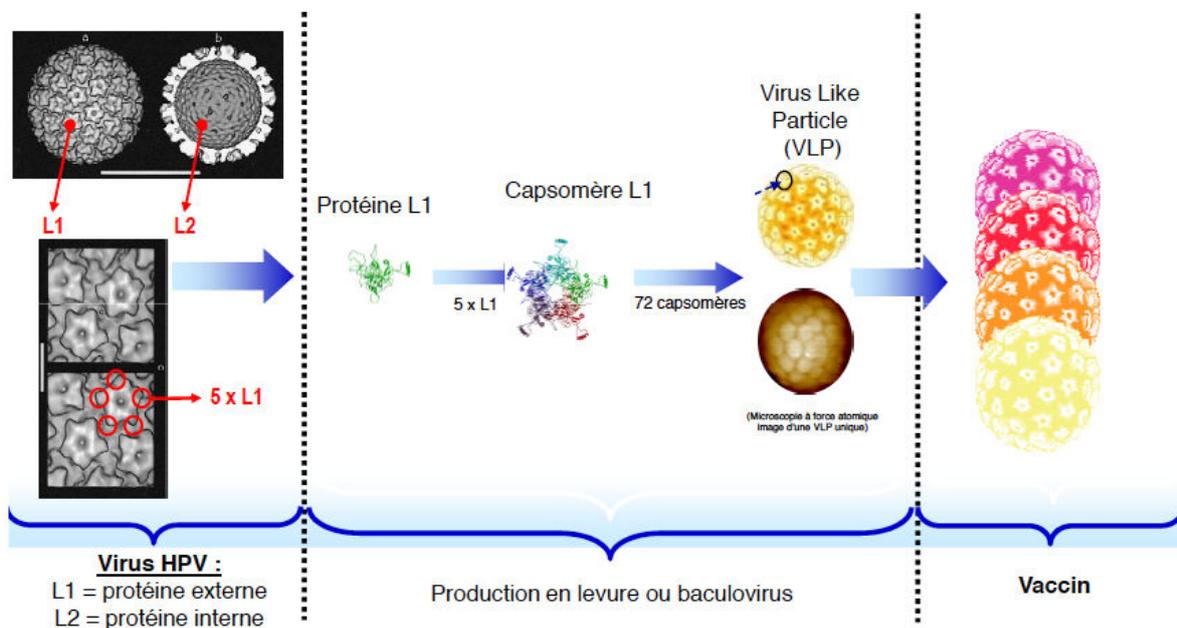


Figure 10. Conception de VLP, bases de la vaccination contre HPV, d'après Schiller (2004).

Les deux vaccins disponibles en France ont une composition différente. Gardasil®, premier vaccin contre le cancer du col de l'utérus obtenant son Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) en France en septembre 2006, est un vaccin recombinant tétravalent possédant les VLP L1 des HPV oncogènes 16 et 18, mais également des HPV BR 6 et 11, responsables de la majorité des condylomes acuminés. Cervarix®, qui a eu son AMM en France en septembre 2007, est un vaccin recombinant seulement bivalent possédant les VLP L1 des HPV16 et 18.

8.1.2. Recommandations

A l'origine, les premières recommandations sur la vaccination contre HPV publiées en 2007 conseillaient une vaccination relativement tardive : elle concernait les jeunes filles de 14 ans, mais elle pouvait également être proposée en rattrapage aux jeunes femmes de 15 à 23 ans n'ayant pas eu de rapports sexuels, ou au plus tard dans l'année suivant le début de leur vie sexuelle. Ces recommandations aboutissaient à une couverture vaccinale insuffisante en France puisqu'elle était estimée par l'InVS en 2011 à 39 % des jeunes filles de 17 ans (données de remboursement de la Caisse Nationale d'Assurance Maladie), malgré une compliance au schéma vaccinal entier estimée à près de 80% en 2010 par l'InVS.

De nouvelles recommandations du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) ont ainsi été entérinées dans le calendrier vaccinal d'avril 2013, destinant dorénavant la vaccination aux jeunes filles de 11 à 14 ans, avec un rattrapage entre 15 et 19 ans inclus. Cette actualisation des recommandations est à mettre en parallèle à l'action 1.2 du Plan Cancer 2014-2019 qui encourage à « *améliorer le taux de couverture de la vaccination par le vaccin anti-papillomavirus en renforçant la mobilisation des médecins traitants et en diversifiant les accès, notamment avec gratuité, pour les jeunes filles concernées* ». Deux schémas vaccinaux sont recommandés : un premier schéma avec 2 doses espacées de 6 mois pour les jeunes filles de 11 à 13 ans révolus à la première dose pour Gardasil® et de 11 à 14 ans pour Cervarix®, et un schéma à 3 doses (0, 2 et 6 mois pour Gardasil® et 0, 1 et 6 mois pour Cervarix®) en rattrapage pour celles âgées de 14 à 19 ans.

Le ministère chargé de la santé a décidé de ne pas imposer une campagne de vaccination systématique pour les adolescentes. La vaccination repose uniquement sur une démarche individuelle portée par la patiente, mais aussi son entourage familial et son médecin traitant qui a un grand rôle de santé publique à jouer. Les vaccins sont pris en charge à hauteur de 65 % par l'Assurance maladie aujourd'hui.

Un vaccin nonavalent (appelé Gardasil 9®), dirigé contre les HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 et 58 et développé par le laboratoire Merck, a reçu en décembre 2014 le feu vert de la FDA pour sa commercialisation aux Etats-Unis. Son AMM est en cours en France. Son impact potentiel est accru par rapport au vaccin tétravalent : il permettrait d'éviter 90% des cancers anaux et du col, des CIN2 et 3, des verrues génitales en cas de couverture vaccinale complète (Riethmuller *et al*, 2016).

La vaccination contre HPV présente des perspectives à court terme en France comme la vaccination masculine et l'élargissement de la fourchette d'âge recommandé pour la vaccination. Aux Etats-Unis, où la vaccination masculine est déjà mise en place, Gardasil® et Cervarix® sont recommandés pour les filles et garçons de 11-12 ans, ainsi qu'en rattrapage jusqu'à 26 ans.

8.1.3. Efficacité de la vaccination contre HPV

L'efficacité de la vaccination a été démontrée dans de nombreuses études chez des jeunes filles n'ayant pas encore été en contact avec HPV. Une forte production d'anticorps dirigés contre les génotypes retrouvés dans le vaccin est mise en évidence à des taux élevés et persistants (Figure 11), avec une réaction croisée variable et faible avec des génotypes non exposés quel que soit le vaccin utilisé (Draper *et al*, 2013).

L'efficacité du vaccin contre le cancer du col de l'utérus ne peut pas être actuellement démontrée car son délai moyen d'apparition est d'environ 15 ans après l'infection. Cependant elle peut être évaluée sur la présence de lésions cervicales de haut grade (CIN2 et 3) pouvant faire suite à une infection et précédant le stade de cancer invasif. L'étude randomisée en double aveugle PATRICIA (*The Papilloma Trial againt Cancer In young Adults*) évalue l'efficacité du vaccin Cervarix® sur les CIN3 sur 4 ans (Figure 12). Cette analyse met en évidence une efficacité notable sur les lésions de haut grade d'autant plus importante que la population vaccinée est jeune (Lehtinen *et al*, 2013).

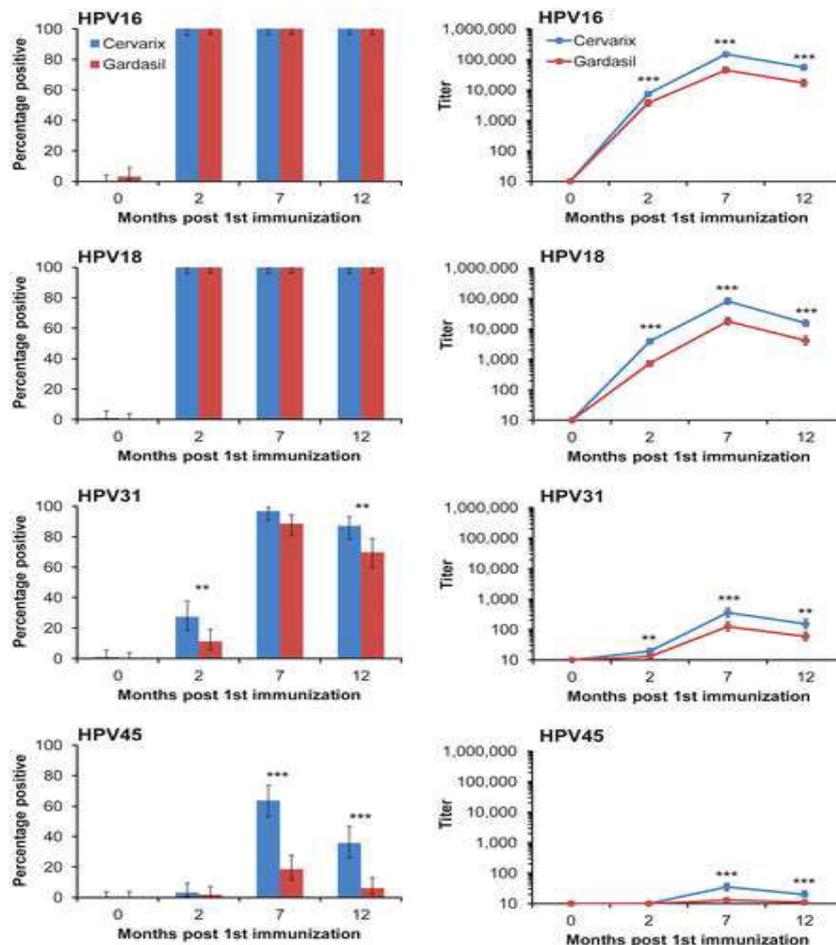


Figure 11. Réponse sérologique post vaccinale (Draper *et al*, 2013).

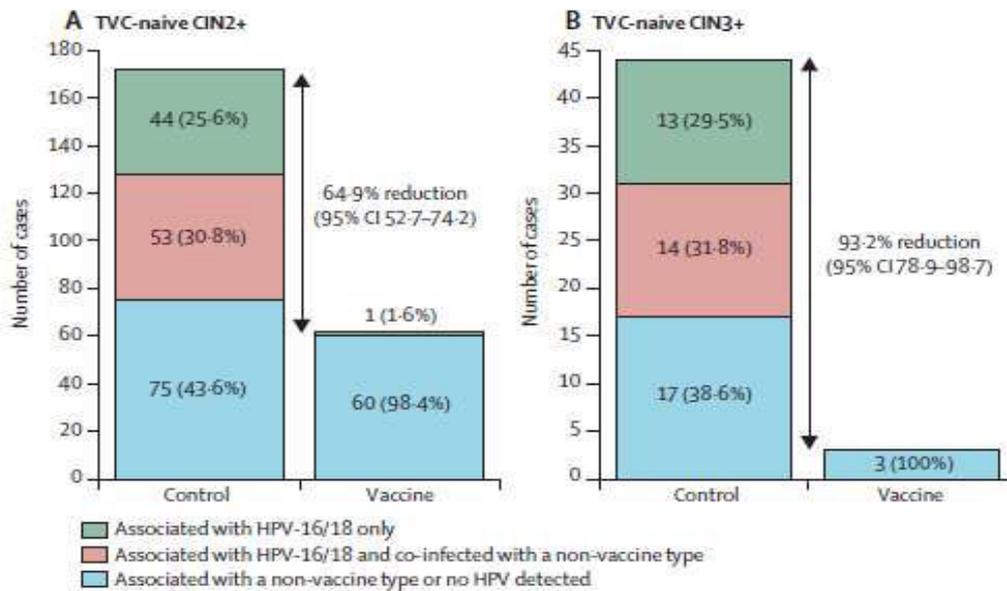


Figure 12. Nombre de cas de CIN2+ et CIN3+ sur une population naïve (avec cytologie négative au début de l'étude) vaccinée par Cervarix® lors de l'étude PATRICIA (Lehtinen *et al*, 2013).

TVC-naïve CIN2+ : femmes avec cytologie négative au début de l'étude qui ont une CIN2+ au bout de 4 ans

TVC-naïve CIN3+ : femmes avec cytologie négative au début de l'étude qui ont une CIN3+ au bout de 4 ans

On observe une réduction de 64.9% des lésions CIN2+ et de 93.2% des lésions CIN3+ dans la population vaccinée par rapport à la population témoin. De plus, la vaccination par Cervarix® apporterait une protection proche de 100% sur les lésions CIN3+ dues à HPV16 ou 18 et une efficacité vaccinale de 93.2% sur les CIN3+ indépendamment du type d'HPV incriminé dans la lésion. Enfin, il a été montré que les vaccins ne sont pas efficaces chez les femmes ayant déjà une infection par un HPV16 et/ou 18.

8.2. Utilisation du préservatif

La prévention de la transmission d'HPV est assez délicate du fait de sa résistance dans le milieu extérieur. En effet, même les méthodes de contraception dites « de barrière » ne sont que partiellement efficaces, le virus pouvant être présent sur la plupart de la zone pelvienne y compris sur des zones non protégées par le préservatif. Le préservatif diminue la transmission d'HPV mais seulement partiellement (Vacarella *et al*, 2006). Son utilisation est cependant recommandée en prévention d'une infection, tout comme pour les autres infections sexuellement transmissibles.

III. Le cancer du col de l'utérus

1. Rappels anatomiques

L'appareil génital féminin est divisé en deux catégories d'organes : les organes génitaux externes (vulve et glandes mammaires) et les organes génitaux internes (utérus, trompes, ovaires et vagin) (Figure 13).

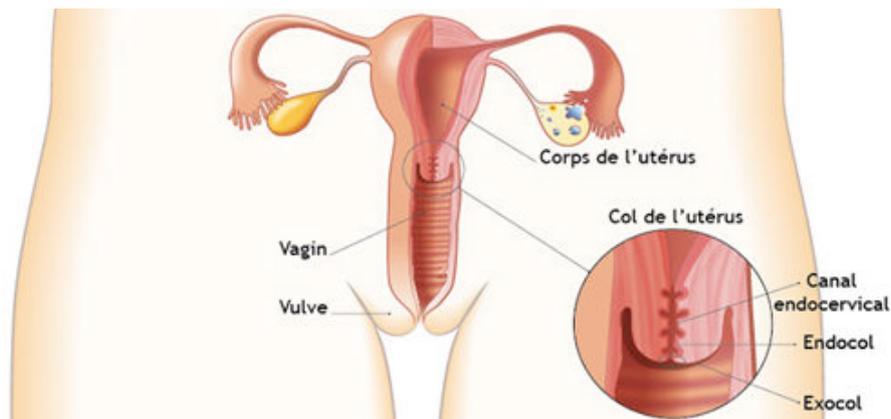


Figure 13. L'appareil génital féminin (papillomavirus.fr).

L'utérus, organe musculéux creux de la forme d'une poire inversé situé au niveau centro-pelvien, mesure environ 8 cm de hauteur et 4 cm d'épaisseur. Il peut être subdivisé en trois grandes parties théoriques : le fond de l'utérus, le corps de l'utérus et le col de l'utérus.

Le fond de l'utérus correspond à l'extrémité supérieure de l'utérus, qui se prolonge latéralement par les cornes utérines puis par les trompes de Fallope en contact avec les ovaires à leur extrémité. Le corps de l'utérus correspond à la cavité utérine proprement dite, ainsi qu'à son épaisse paroi. Cette paroi est composée d'une couche de nombreuses fibres musculaires lisses, formant le myomètre, recouverte sur sa partie interne d'une muqueuse richement vascularisée, l'endomètre.

Dans la partie inférieure de la cavité de l'utérus se trouve le col de l'utérus, véritable zone de confluence entre l'utérus et le vagin. Il est de la forme d'un cylindre mesurant environ 3 cm de longueur pour 2,5 cm de diamètre. Selon certains facteurs, comme par exemple l'âge de la femme, sa parité, son statut hormonal ou la prise d'un traitement contraceptif oral, sa forme et ses dimensions peuvent varier. Il abouche au niveau du vagin par l'orifice externe, visible lors d'un examen gynécologique à l'aide d'un spéculum, et comporte deux parties :

- **l'endocol** : partie inférieure du canal endocervical débouchant sur l'orifice externe,
- **l'exocol** : portion du col qui s'étend à l'extérieur de l'orifice externe au niveau de la partie haute du vagin et de ses parois.

La zone de transition entre endocol et exocol est appelée zone de jonction (Figure 14).

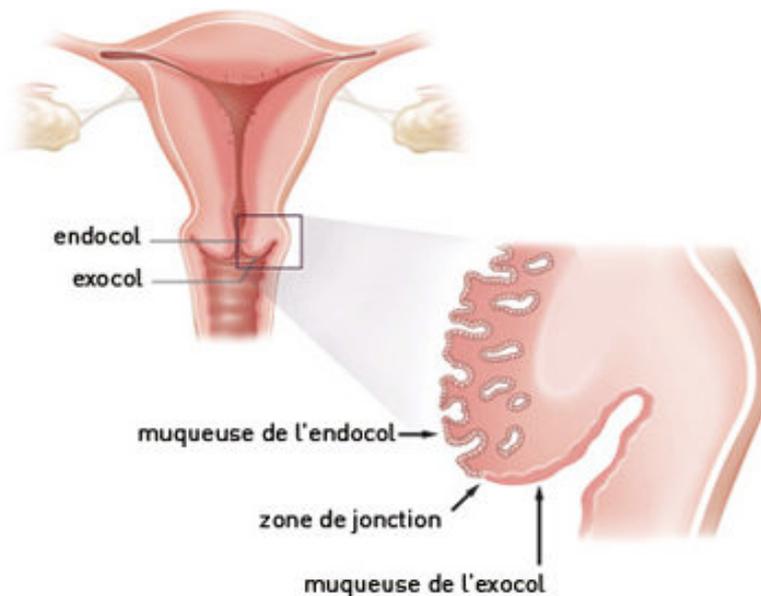


Figure 14. Zone de jonction (ecancer.fr).

2. Rappels histologiques du col de l'utérus

2.1. Les différents épithéliums

L'exocol est tapissé par un épithélium malpighien, dit aussi épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, et l'endocol par un épithélium cylindrique. La rencontre de ces deux types d'épithélium a lieu au niveau de la zone de jonction, également appelée jonction pavimento-cylindrique. A l'origine, elle prend la forme d'une ligne droite démarquant une différence de niveaux, correspondant à la différence d'épaisseur cellulaire entre les deux épithéliums (Figure 15). Sa localisation est variable en fonction de l'âge de la femme, de son statut hormonal, du traumatisme provoqué par un accouchement ou de la prise d'une contraception orale.

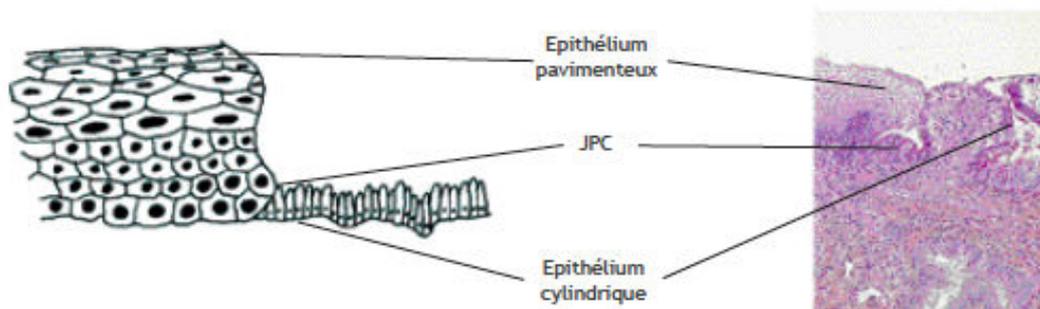


Figure 15. Jonction pavimento-cylindrique, d'après Sellors *et al* (2004).

L'épithélium malpighien de l'exocol est constitué de plusieurs couches de cellules (normalement 15 à 20 couches) de plus en plus fines. Il apparaît opaque et de couleur rose pâle. Il forme une continuité avec l'épithélium vaginal et est assez résistant aux agressions extérieures (bactéries ou acidité locale) de par sa nature stratifiée. Son architecture histologique peut être divisée en 3 couches (Figure 16) :

- Une couche inférieure constituée d'une assise unique de cellules basales arrondies reposant sur la membrane basale, qui permet de séparer l'épithélium du stroma. Les cellules basales se divisent pour former les couches de cellules parabasales qui elles-mêmes vont se différencier pour former la couche intermédiaire
- Une couche intermédiaire constituée de cellules polygonales (motif « en mosaïque »)
- Une couche superficielle composée de cellules aplaties, dites pavimenteuses.

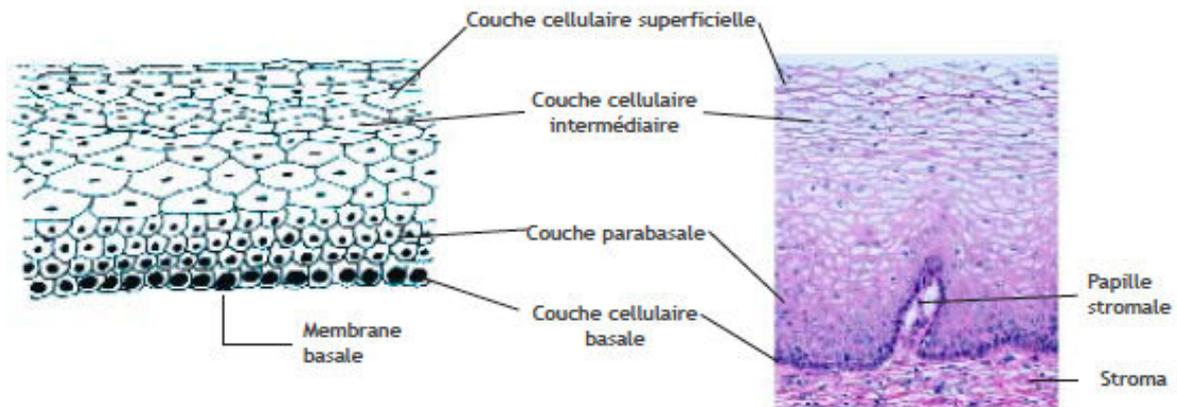


Figure 16. Epithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, d'après Sellors *et al* (2004).

Après la ménopause (période induisant une réduction de l'exposition aux oestrogènes), l'épithélium pavimenteux va subir des modifications : il va s'amincir, prendre une couleur plus claire rose-blanchâtre et deviendra plus fragile, et par conséquent plus sensible aux traumatismes.

L'épithélium cylindrique est quant à lui formé d'une unique couche de cellules hautes reposant sur la membrane basale (Figure 17). Il est beaucoup plus mince que l'épithélium pavimenteux tapissant l'exocol. Il tapisse le canal endocervical et s'étend vers l'extérieur sur une portion variable de l'exocol (ectropion). Lors d'un examen gynécologique, son aspect est plutôt rouge brillant, à cause de sa finesse qui permet de voir plus facilement la vascularisation sous-jacente dans le stroma.

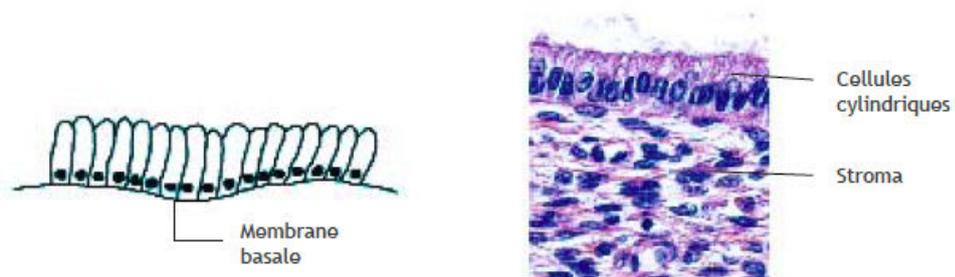


Figure 17. Epithélium cylindrique, d'après Sellors *et al* (2004).

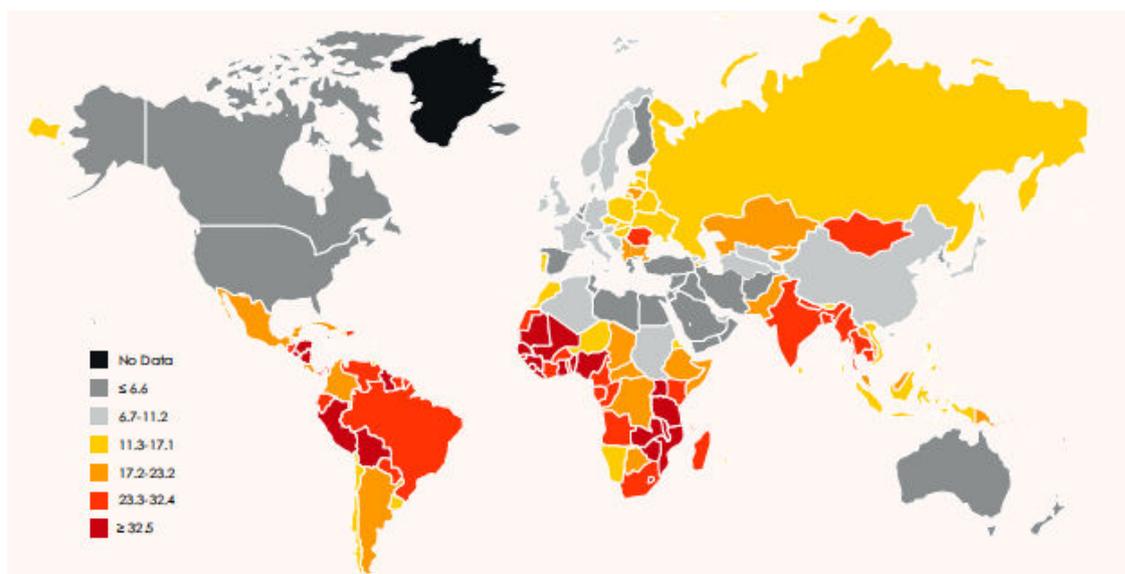
2.2. Métaplasie pavimenteuse et zone de remaniement

L'épithélium cylindrique est progressivement remplacé par un épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé. C'est ce processus physiologique normal de remplacement de l'épithélium cylindrique par

un épithélium pavimenteux qui est appelé métaplasie pavimenteuse, donnant naissance à une nouvelle jonction. La région du col s'étendant entre la jonction originelle et la nouvelle jonction (où a eu lieu la métaplasie pavimenteuse) est appelée zone de remaniement. Physiologiquement, les couches supérieures de la zone de remaniement se renouvellent sans cesse en temps normal, assurant ainsi le maintien de l'intégrité de l'épithélium, grâce à la formation constante et ordonnée de nouvelles cellules à partir de la couche basale.

3. Epidémiologie

Le cancer du col de l'utérus est le 4ème cancer le plus fréquent chez les femmes dans le monde avec une incidence de 35/100 000, soit 530 000 nouveaux cas par an. Il existe de grandes disparités selon les régions du monde, les pays en développement étant de loin, les plus touchés (Figure 18. A). En France métropolitaine, en 2012, il représente le 11^e cancer chez la femme avec 3 028 cas estimés, mais le 2^e chez la femme jeune âgée de moins de 45 ans, et le 12^e le plus meurtrier avec 1 102 décès estimés. Dans notre pays, les taux d'incidence (6,7/100 000 femmes en 2012) et de mortalité (1,8/100 000 en 2012) par cancer du col de l'utérus sont en constante diminution depuis 1980, cette baisse étant cependant moindre depuis le début des années 2000 (données réseau Francim, d'après Binder-Foucard *et al*, 2013). La France fait partie des pays de faible incidence du cancer du col de l'utérus. Il faut mettre en relation cette diminution avec la mise en place du dépistage spontané par cytologie réalisée à partir de FCU. Les pays ayant une incidence proche de celle de la France sont les Etats-Unis (6,4 pour 100 000 femmes), le Canada (6,1), la Suède (6,9) et le Royaume-Uni (6,8). La Finlande a l'incidence la plus faible (Figure 18. B).



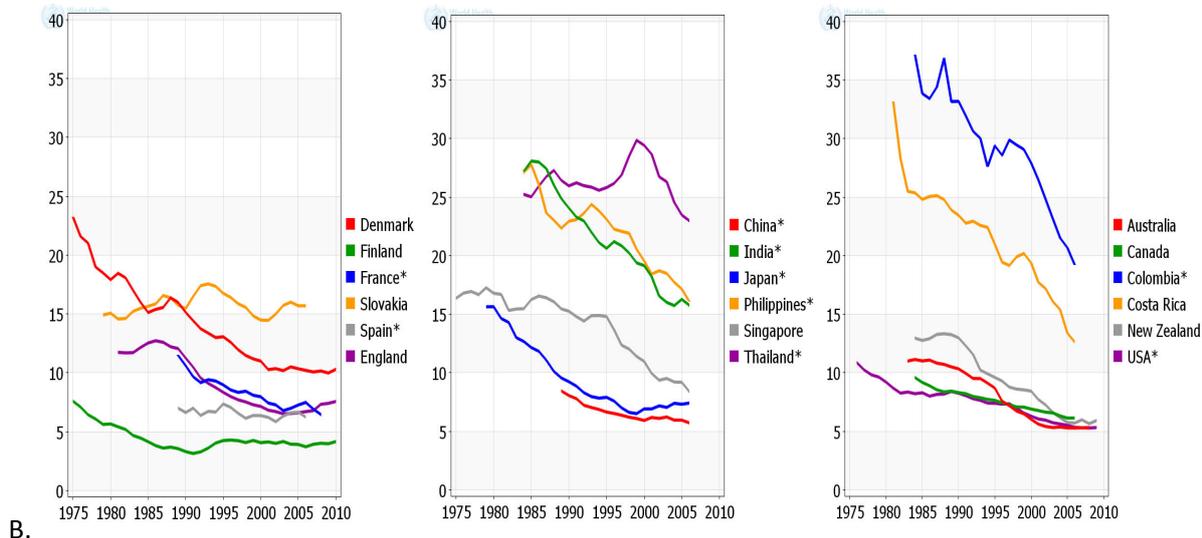


Figure 18. A. Incidence estimée dans le monde du cancer du col (Forman *et al*, 2008). B. Evolution du taux d'incidence du cancer du col de l'utérus dans différents pays (pour 100 000 femmes) (Globocan 2012, http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx).

L'épidémiologie en France du cancer du col de l'utérus est marquée par des disparités sociales et géographiques notables (Garnier *et al*, 2013). On peut noter par exemple que les taux d'incidence et de mortalité sont plus élevés au Nord de l'Hexagone, et encore plus dans les Départements d'Outre-mer (Figure 19).

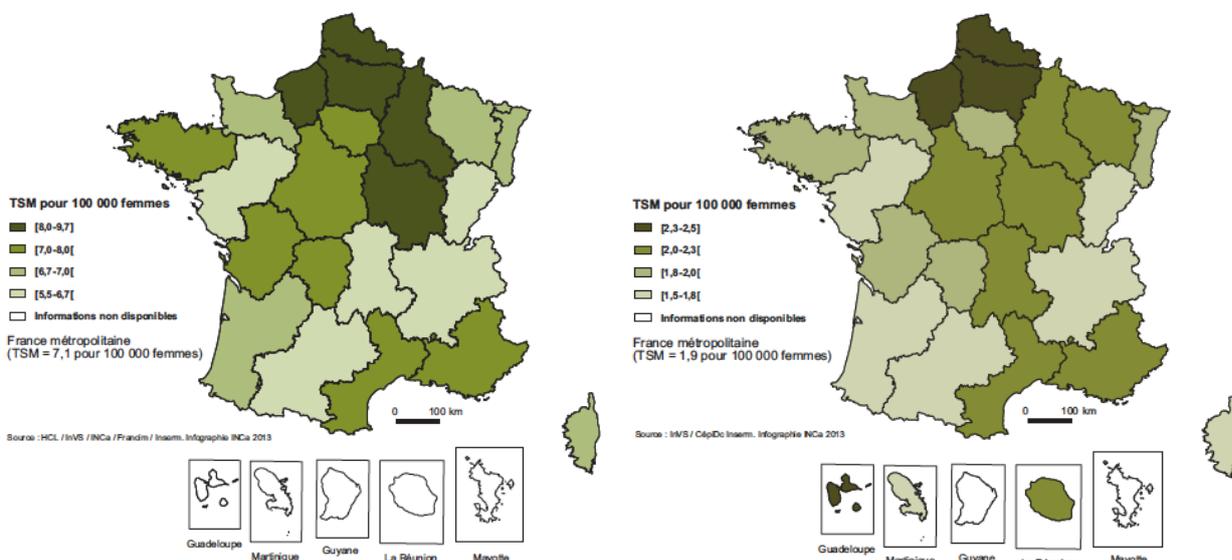


Figure 19. Taux standardisés à la population mondiale d'incidence (en 2005) et de mortalité (2005-2009) du cancer du col de l'utérus par région en France (Garnier *et al*, 2013)

Une étude portant sur les données de mortalité de la période 1975-1990, chez les femmes entre 35 et 59 ans en 1975, montrait une association négative forte avec le niveau d'études pour les cancers de l'utérus, contrairement au cancer du sein pour lequel aucune association n'était observée (Menvielle *et al*, 2005) : les femmes sans diplôme auraient un risque de décès par cancer du col deux

fois plus élevé que celles titulaires d'un diplôme supérieur ou égal au baccalauréat. Ces disparités sont à rattacher partiellement au défaut d'adhésion au dépistage au sein de ces populations.

Les HPV HR les plus fréquemment identifiés dans les cancers invasifs du col de l'utérus en France sont par ordre décroissant de fréquence les génotypes 16, 18, 33, 31, 68, 45, 52 et 58 d'après l'étude EdiTH (Prétet *et al*, 2008).

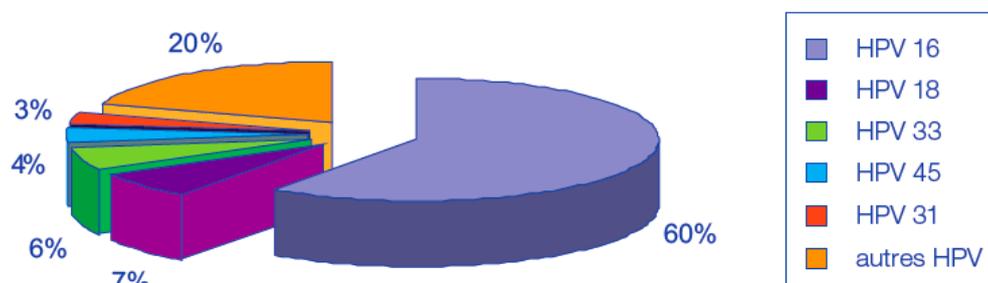


Figure 20. Distribution des génotypes d'HPV dans les cancers du col de l'utérus en France, Haute Autorité de Santé (HAS) (2013) d'après Prétet *et al* (2008).

Il existe deux pics d'incidence : le principal se trouve autour de 40 ans et le second après 80 ans, d'après les données du réseau Francim de 1980 à 2005 (Guizard *et al*, 2008). L'âge médian au diagnostic est de 51 ans. Il est très rare chez les femmes ayant moins de 30 ans.

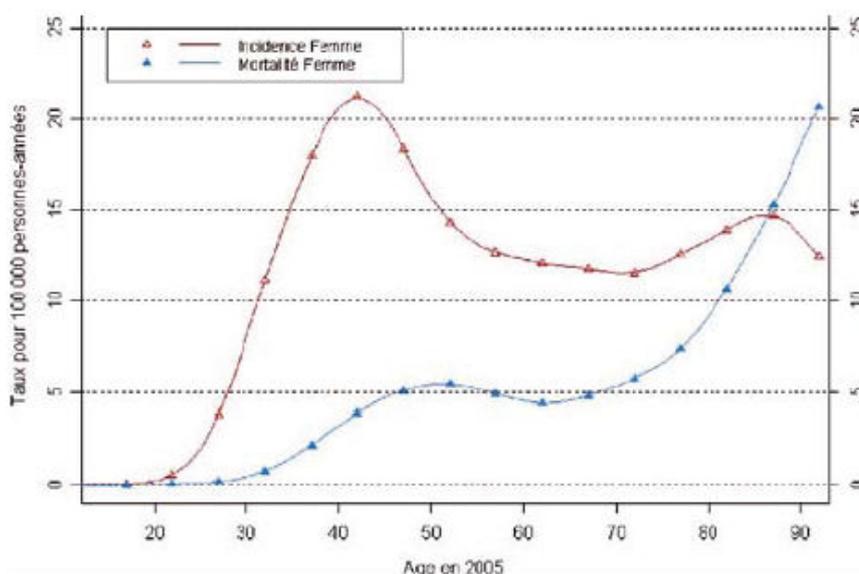


Figure 21. Taux bruts d'incidence et de mortalité du cancer du col de l'utérus par âge en 2005 en France (Guizard *et al*, 2008)

4. Les facteurs de risque du cancer du col de l'utérus

Le lien entre la persistance d'une infection par un HPV HR et l'augmentation du risque de progression vers un cancer lié à HPV est clairement démontré (pour revue, Stanley, 2010). La plupart des études menées sur le sujet estiment à 99.8% la présence d'ADN d'HPV dans les cancers du col de l'utérus, principalement HPV16 et 18. Du fait de l'importante clairance virale, la majorité des femmes

infectées par un HPV HR ne développerait pas de cancer grâce à une réponse immunitaire cellulaire efficace. L'infection par un HPV HR est considérée comme nécessaire mais pas suffisante pour expliquer l'évolution des lésions vers une néoplasie cervicale. D'autres facteurs liés au virus, à l'hôte ou à l'environnement interviennent également.

Parmi les facteurs liés au virus, l'infection par certains génotypes d'HPV HR - en particulier les HPV16 et, dans certaines études HPV 33, pour l'exocol, et les HPV18 et 45 pour l'endocol -, la présence d'une charge virale élevée, l'intégration d'HPV dans le génome de l'hôte majoreraient le risque d'évolution des lésions (Rodriguez *et al*, 2008 ; Muñoz *et al*, 2006 ; Denis *et al*, 2008)

Parmi les facteurs liés à l'hôte, il faut distinguer les facteurs génétiques des facteurs acquis. Parmi les facteurs génétiques, des polymorphismes des gènes *HLA (Human Leukocyte Antigen)* de classe I et II, *Tap 1*, *Tap 2* et du *killer immunoglobuline-like receptor (KIR)* parfois associés à une prédisposition au développement de dysplasies cervicales et de cancers ont été caractérisés : par exemple, les haplotypes HLA de classe II DRB1*150 et DQB1*0602 sont significativement associés aux cancers dus à HPV16 (Apple *et al*, 1994). L'immunodépression joue aussi un rôle dans la persistance des infections à HPV et donc dans la survenue de cancer. Parmi les causes d'immunodépression, on peut noter les déficits immunitaires primitifs mais aussi les thérapies immunosuppressives en cas de greffe d'organe et l'infection par le VIH. En effet, chez femmes infectées par le VIH, de nombreux travaux montrent une fréquence plus importante des infections à HPV, d'une plus grande persistance, d'une fréquence plus élevée d'anomalies cytologiques et d'un risque accru de dysplasies de haut grade et de cancer (Cox *et al*, 2006 ; Moscicki *et al*, 2000). De plus, l'infection à VIH représente un facteur de risque de développer d'autres affections malignes associées aux HPV HR, tels que cancers de l'anus surtout, mais aussi de la vulve ou du pénis. Les co-infections avec d'autres IST comme *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, les Herpès simplex de type 1 et 2, influenceraient l'évolution de l'infection par HPV (Bosch *et al*, 2006). La parité jouerait aussi un rôle dans le risque de développer un cancer du col de l'utérus, celui-ci augmentant avec le nombre de grossesses. Cela aurait un lien avec le maintien de la zone de transformation sur l'exocol mais également avec les modifications hormonales observées pendant la grossesse qui moduleraient la réponse immunitaire face à une infection à HPV. L'âge croissant serait un facteur de persistance.

Enfin, certains facteurs environnementaux, tels que l'utilisation au long cours (supérieure à 5 ans) d'une contraception par voie orale, le tabagisme ou certains facteurs nutritionnels (notamment une concentration plasmatique élevée en homocystéine), favoriseraient la persistance de l'infection et donc majoreraient le risque d'évolution de lésions vers un cancer invasif (Moreno *et al*, 2002).

5. HPV et cancer du col de l'utérus

Le cancer invasif du col utérin est subdivisé principalement en deux types histologiques :

- le carcinome cellulaire épidermoïde, qui se développe à partir de l'épithélium pavimenteux métaplasique de la zone de remaniement au niveau de l'exocol et qui représente 90% des cancers invasifs du col;
- l'adénocarcinome, qui se développe à partir de l'épithélium cylindrique au niveau de l'endocol et qui représente 10% des cas. Il ne sera pas détaillé dans cette thèse.

5.1. Classification cytologique des lésions du col de l'utérus

Nous avons vu précédemment la classification histologique des lésions dysplasiques (CIN). Différentes classifications de l'observation des dysplasies cervicales se sont succédées depuis plus d'un demi-siècle. Le système de Bethesda, développé en 1988 et mis à jour en avril 2001 puis en 2014, a fait consensus avec son système de terminologie permettant la présentation des résultats de la cytologie cervicale. Selon ce système, le compte-rendu du frottis doit comporter trois parties. La première partie témoigne de son caractère interprétable ou non (par exemple selon la qualité de l'échantillonnage). La seconde partie rapporte les résultats avec les éventuelles anomalies des cellules malpighiennes (Tableau IX) et/ou glandulaires (non abordées ici). La troisième apporte des recommandations et des précisions.

Le système Bethesda possède donc six catégories selon la cytologie (du frottis normal à la présence d'un cancer *in situ*) de l'épithélium. Les cinq anomalies cytologiques peuvent être regroupées en deux catégories : les lésions malpighiennes intra-épithéliales de bas grade (correspondant aux résultats ASC-H et LSIL) et celles de haut grade (correspondant aux résultats HSIL et au carcinome).

CATEGORIE	SIGNIFICATION	TRADUCTION
NILM	Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy	Absence de lésion
ASC-US	Atypical Squamous cells of unknown significance	Présence de cellules épidermoïdes atypiques de signification indéterminée
ASCH	Atypical Squamous Cells – cannot exclude HSIL	Présence de cellules épidermoïdes atypiques ne permettant pas d'exclure une lésion intra-épithéliale épidermoïde de haut grade
LSIL	Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions	Mise en évidence d'une lésion intra-épithéliale épidermoïde de bas grade
HSIL	High-grade Squamous Intraepithelial Lesions	Mise en évidence d'une lésion intra-épithéliale épidermoïde de haut grade ou cancer invasif
Carcinome	Carcinoma	Carcinome épidermoïde

Tableau IX. Classification Bethesda pour les lésions malpighiennes

Histologie	Cytologie	ASC-US	LSIL
Absence de lésion		28%	14%
CIN1		54%	69%
CIN2+		18%	17%

Tableau X. Corrélation entre FCU ASC-US/LSIL et CIN (Dvorak *et al*, 1999).

Le risque relatif de voir apparaître une lésion de haut grade ou un cancer invasif après un ASC-US est significativement augmenté comme en atteste une étude norvégienne portant sur un suivi de 10 037 ASC-US pendant 7 ans : 10,1% de CIN2+ et 0,6% de cancers ont été détectés, correspondant à un risque relatif égal à 15 durant les deux premières années (Nygard *et al*, 2003).

5.2. Histoire naturelle du cancer du col utérin

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus évoluerait selon un continuum de lésions histologiques précancéreuses (Figure 22). Celles-ci font suite à la persistance de l'infection par un HPV HR. Quel que soit le grade des lésions précancéreuses, elles régressent le plus souvent spontanément (Figure 23), mais peuvent persister et progresser vers une lésion plus sévère ou évoluer vers un cancer.

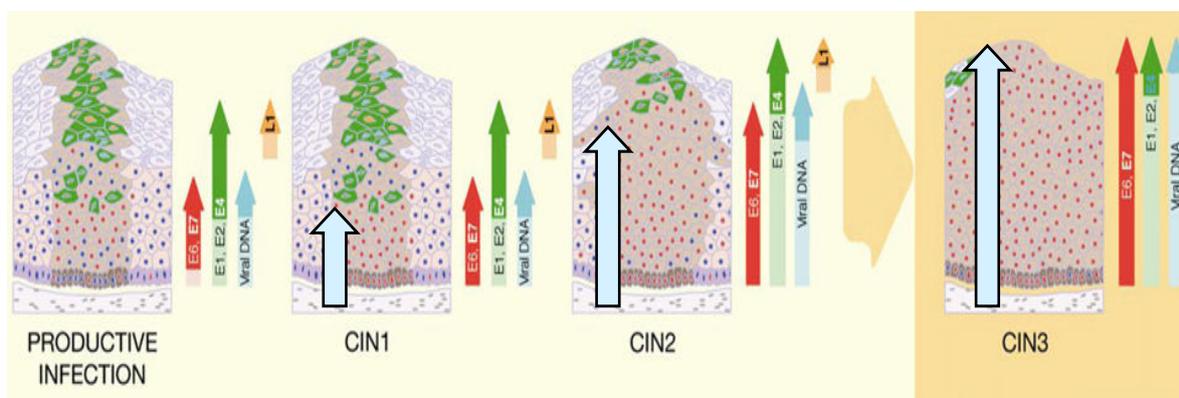


Figure 22. Des lésions cancéreuses au cancer invasif, d'après Doorbar *et al* (2013).

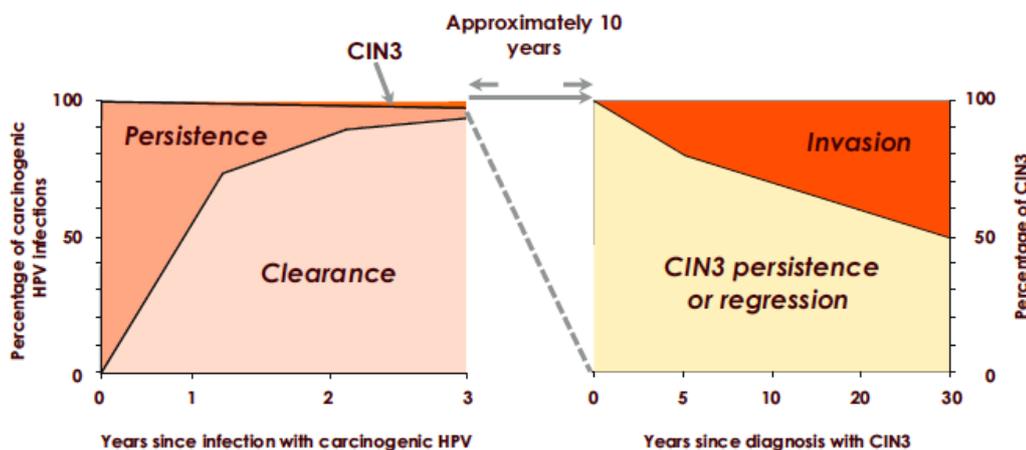


Figure 23. Histoire naturelle de l'infection cervicale par HPV (Moscicki *et al*, 2006).

Au niveau du col de l'utérus, seulement 10 % des infections seraient persistantes (Figure 23), cette persistance étant liée au type viral et surtout à l'hôte. Le pourcentage de persistance des infections par HPV HR semble supérieur chez les femmes d'âge supérieur à 30 ans et le génotype 16 a un risque de persistance supérieur à celui observé pour les autres HPV HR (Figure 24) (Rodriguez *et al*, 2008 ; Jaisamrarn *et al*, 2013). Dans l'étude de Rodriguez *et al* (2008) au Costa Rica qui portait sur 800 HPV HR retrouvés chez 599 femmes âgées de 18 ans et plus, 4% des infections à HPV HR étaient associées

à un diagnostic de CIN2+ dans les 3 ans et 7% dans les 7 ans. Parmi les infections qui persistaient au moins 12 mois, 21% étaient associées à un diagnostic de CIN2+ dans les 30 mois.

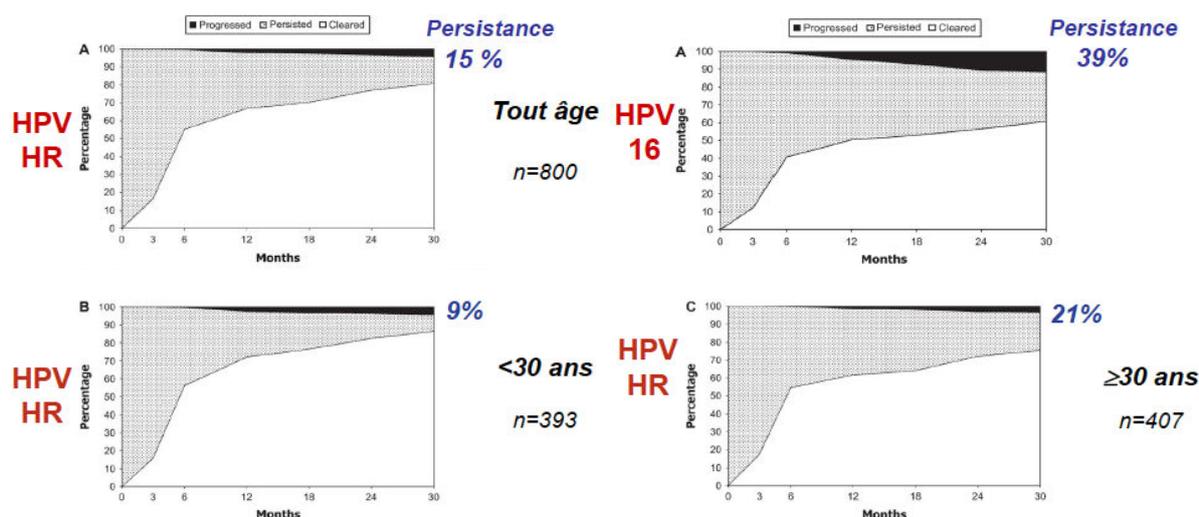


Figure 24. Persistence des HPV HR et d'HPV16, d'après Rodriguez *et al* (2008).

A : chez les femmes tous âges confondus ; B : chez les femmes < 30 ans ; C chez les femmes > 30 ans

L'évolution complète vers le cancer s'étale généralement sur une durée supérieure à 10 ans (Monsonogo, 2006 ; Bosch *et al*, 2013) (Figure 25). Durant cette période, la patiente est le plus souvent asymptomatique, ce qui signifie qu'en l'absence d'un dépistage régulier la pathologie peut évoluer lentement sans être diagnostiquée. Le passage par des lésions précancéreuses laisse une fenêtre d'opportunités importante pour la prévention du cancer.

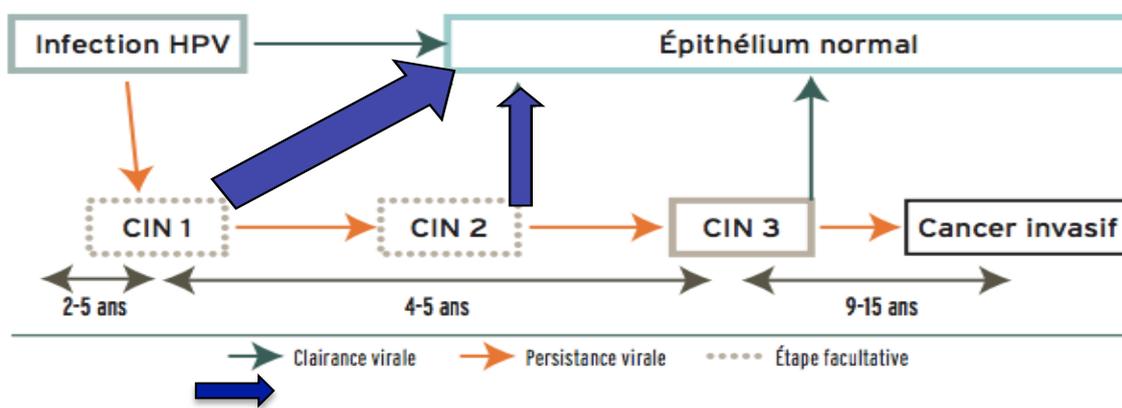


Figure 25. Histoire naturelle histologique de l'infection, d'après l'InVS (2008).

De nombreuses études se sont intéressées à la probabilité d'évolution des lésions (retour vers un épithélium normal, persistance ou progression vers un stade plus avancé) selon le grade (CIN1, 2 ou 3). Selon les études, les CIN1 régressent vers une histologie ou une cytologie normale dans 77% à 80% des cas, persistent dans 5,4 à 16% et progressent vers une CIN2+ dans 4,9 à 7,1% alors que les CIN2 régressent dans 27,3 à 74% des cas (Guedes *et al*, 2010 ; Ho *et al*, 2011 ; Discacciati *et al*, 2011). Ce taux augmente avec la durée de suivi : il atteint 48,5 à 74% à 1 an. Entre 3,8 et 45,1% des CIN2 persistent (Nogawa *et al*, 2013 ; Vandelft *et al*, 2011 ; Yokoyama *et al*, 2003 ; Guedes 2010 ; Ho *et al*,

2011). La progression des CIN2 vers une CIN3 varie entre 4,8 et 25,8% (Ho *et al*, 2011 ; Kruse *et al*, 2004 ; Nogawa *et al*, 2013). Concernant les CIN3, une étude rétrospective allemande effectuée sur 635 cas montre que 1,3% des lésions régressent vers une lésion CIN 1 ou inférieure, alors que 98,7 % persistent en lésions histologiques de haut grade (CIN 2 ou CIN 3) sur une durée de suivi de l'ordre de 2,3 mois, et que 1,9% présentent une lésion invasive à environ 4 semaines du diagnostic CIN3 initial (Motamedi *et al*, 2015). Une étude plus ancienne publiée en 1993 avait montré que 12% des CIN3 progressent vers un cancer invasif (Ostor *et al*, 1993). Le taux de progression d'une dysplasie vers un cancer invasif augmente donc avec la sévérité du grade observé alors que dans le même temps le taux de régression diminue.

6. Prévalence d'HPV selon les lésions cytologiques et histologiques

Plusieurs études ont déterminé la prévalence des HPV dans les différentes lésions. En 2012, une étude mexicaine (Peralta-Rodriguez *et al*, 2012) effectuée sur une population de 8706 femmes confirme des données déjà connues, à savoir que la prévalence des HPV HR augmentait avec le grade des lésions (Figure 26). HPV16 est toujours le plus fréquent quel que soit le grade de la lésion (Figure 27) et cette donnée est retrouvée dans les différentes régions du monde. La même année, une méta-analyse de Forman *et al* (2012) montrant la proportion de femmes infectées par un HPV selon le grade (cytologique ou histologique) de la lésion cervicale observée ainsi que le pourcentage de femmes porteuses d'HPV16 parmi celles qui sont porteuses d'HPV confirme ces données (Tableau XI).

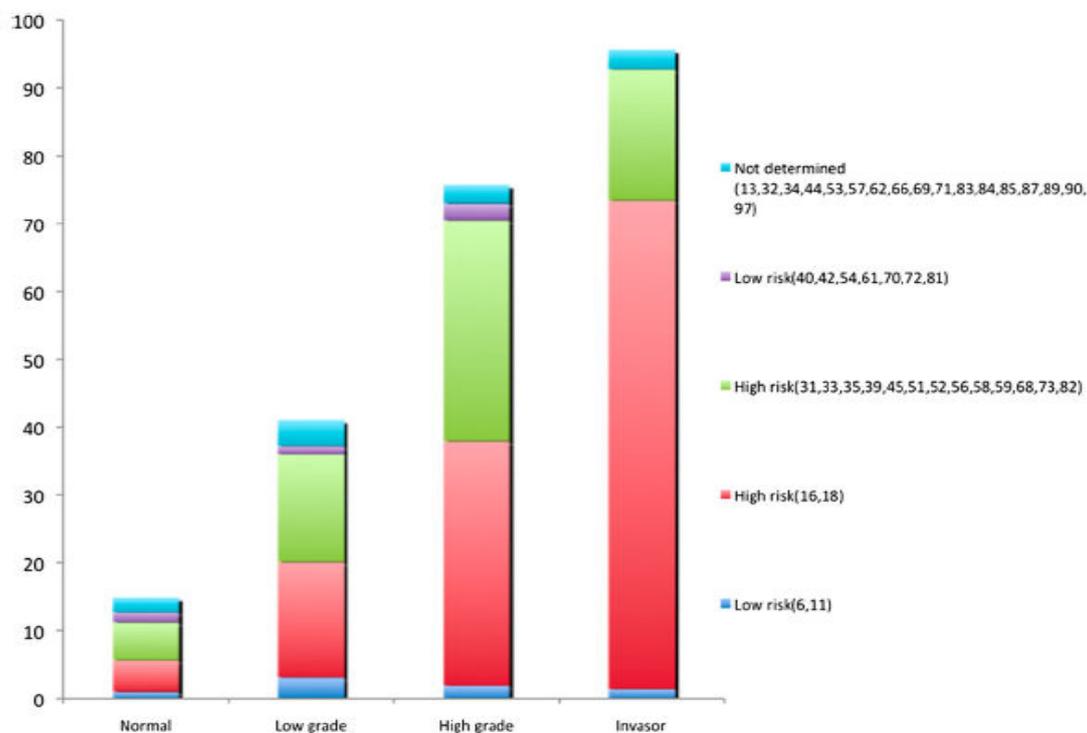


Figure 26. Prévalence d'HPV selon la cytologie chez 8706 femmes mexicaines (Peralta-Rodriguez *et al*, 2012).
 Normal : FCU normal ; Low Grade : FCU ASC-H et LSIL ; High grade : FCU HSIL ; Invasor : Carcinome ; Low risk : HPV BR (6 et 11) ; High risk : HPV HR ; Not determined : HPV au risque oncogène non défini dans l'étude

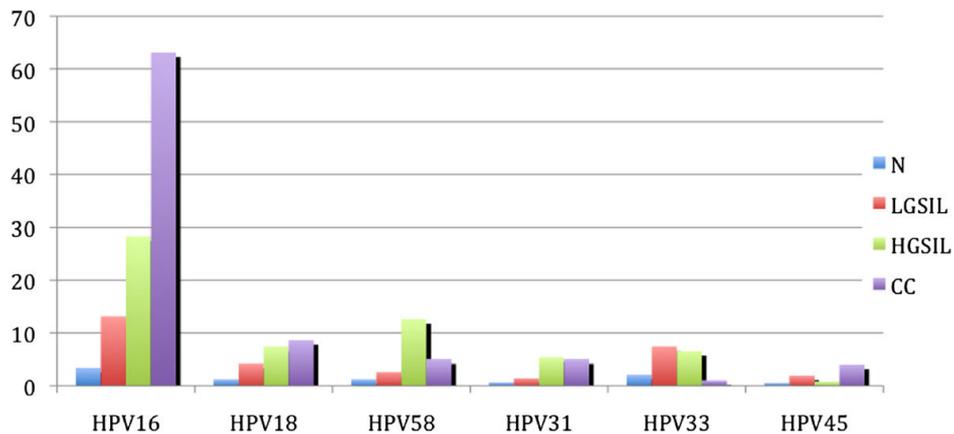


Figure 27. Comparaison des génotypes les plus fréquents pour chaque type de lésion cervicale chez 8706 femmes mexicaines (Peralta-Rodriguez *et al*, 2012).

Atteinte cervicale	HPV positif	Pourcentage d'HPV16
Cytologie normale	12%	20%
ASC-US	52%	23%
LSIL	76%	25%
HSIL	85%	48%
CIN1	73%	28%
CIN2	86%	40%
CIN3	93%	58%
Carcinome invasif	89%	63%

Tableau XI. Prévalence d'HPV selon les dysplasies observées, d'après Forman *et al* (2012)

7. Signes cliniques et fonctionnels, classification et pronostic

Les symptômes faisant suspecter un cancer du col de l'utérus sont généraux et aspécifiques. Les principales manifestations sont des métrorragies, spontanées ou provoquées par les rapports sexuels, ainsi que des leucorrhées purulentes, malodorantes et parfois striées de sang. D'autres signes comme des dyspareunies, des douleurs pelviennes, une dysurie, des ténesmes voire des douleurs lombaires ont aussi été décrits. Ces signes cliniques sont très souvent tardifs. Une majorité de patientes reste donc asymptomatique, y compris dans certaines formes avancées. L'intérêt d'un dépistage régulier est donc indispensable pour prévenir l'apparition de dysplasies sévères et de cancers généralement silencieux d'un point de vue clinique.

Au niveau du col de l'utérus, des lésions peuvent être évocatrices comme par exemple une large ulcération à bord irrégulier saignant au contact, une forme végétante ou une forme infiltrante avec une induration déformant le col. Le col peut cependant garder un aspect tout à fait normal à l'examen gynécologique, notamment quand la tumeur se développe aux dépens d'une zone de jonction non visible ou de l'endocol.

Il existe une classification clinique des cancers du col utérin selon la Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique (FIGO) : elle permet de caractériser le stade d'extension du cancer du

col de l'utérus. L'étendue d'un cancer du col de l'utérus est déterminée par la taille de la tumeur, sa profondeur dans la muqueuse du col, son extension éventuelle aux structures ou aux organes voisins ainsi que son extension métastatique.

Ces critères permettent de définir quatre stades (contenant des sous-classes), numérotés de I à IV :

- **Stade I** : la tumeur est strictement limitée au col de l'utérus
- **Stade II** : la tumeur s'étend localement au-delà du col, à la partie supérieure du vagin ou aux paramètres pelviens
- **Stade III** : la tumeur envahit le vagin dans sa totalité et/ou elle s'étend à la paroi du pelvis et/ou elle bloque un uretère
- **Stade IV** : la tumeur s'étend jusqu'à la vessie ou au rectum voire au-delà de la cavité du pelvis et a donné des métastases dans des organes éloignés (poumons, foie, péritoine).

La survie à 5 ans est comprise entre 84 et 93 % pour les cancers de stade I et 35 % pour les cancers de stade IV.

8. Le dépistage en France

Le dépistage repose actuellement sur un test cytologique réalisé à partir du FCU, qui permet de déceler l'existence de cellules anormales correspondant à la présence d'une lésion précancéreuse ou d'un cancer. Deux techniques de FCU de dépistage coexistent aujourd'hui : le FCU avec cytologie conventionnelle sur lame et le FCU avec cytologie en milieu liquide. Quelle que soit la technique utilisée par le préleveur clinicien (gynécologue, médecin généraliste, biologiste médical, anatomo-pathologiste ou sage-femme), le FCU de dépistage nécessite un prélèvement de cellules sur le col utérin au niveau de la jonction pavimento-cylindrique selon la procédure de Papanicolaou (1943). Le matériel prélevé est ensuite étalé puis fixé sur une lame, dans le cas d'un FCU dit conventionnel, ou mis en suspension dans un flacon contenant un liquide de conservation dans le cas d'un FCU dit en milieu liquide. Le FCU en milieu liquide possède l'avantage de permettre d'effectuer par la suite un test HPV sur le même prélèvement. Le FCU doit être effectué en respectant certaines conditions : à distance d'un rapport sexuel (24 à 48 heures), en dehors des périodes menstruelles, en l'absence d'infection ou de traitement local type ovule.

En France, la HAS recommande un dépistage spontané par FCU tous les trois ans, après deux FCU initiaux normaux à un an d'intervalle, chez les femmes de 25 à 65 ans (y compris pour les femmes vaccinées contre HPV). Cette recommandation ne s'applique pas aux femmes ayant eu une hystérectomie avec ablation du col pour pathologie bénigne indépendante des HPV ni à celles n'ayant jamais eu de rapport sexuel. Chez les femmes ayant une immunodéficiency, et en particulier les femmes infectées par le VIH, un dépistage annuel par FCU est recommandé en l'absence de lésion cervicale si l'état immunitaire est satisfaisant, et deux FCU par an avec colposcopie en cas d'infection

connue à HSV, après conisation et en cas d'immunodépression sévère ($CD4 < 200/mm^3$). Dans cette population, face à la plus grande prévalence des CIN et au risque supérieur de progression (Sun *et al*, 1997), une coloscopie doit être réalisée systématiquement devant toute anomalie cytologique.

Le dépistage par FCU des dysplasies a permis une réduction importante de l'incidence et de la mortalité par cancer du col de l'utérus. En effet, la détection des lésions puis leur traitement a conduit à une réduction de 91 % du risque de cancer lorsque les recommandations sont bien suivies avec un dépistage tous les trois ans (Kjaer *et al*. 2005).

En France, il n'y pas d'enregistrement systématique par un quelconque organisme de la pratique des FCU. Cependant, les études des données de remboursement par l'Assurance Maladie (régime général) montrent, d'après une étude réalisée par la HAS en 2010, que la couverture à 3 ans par le FCU est estimée à seulement 56,7 % des femmes concernées pour les années 2006-2008, avec un pic de réalisation entre 35 et 39 ans (Figure 28). Il existe une forte disparité selon l'âge : le taux de couverture est de l'ordre de 60% chez les 25-50 ans puis diminue fortement ensuite.

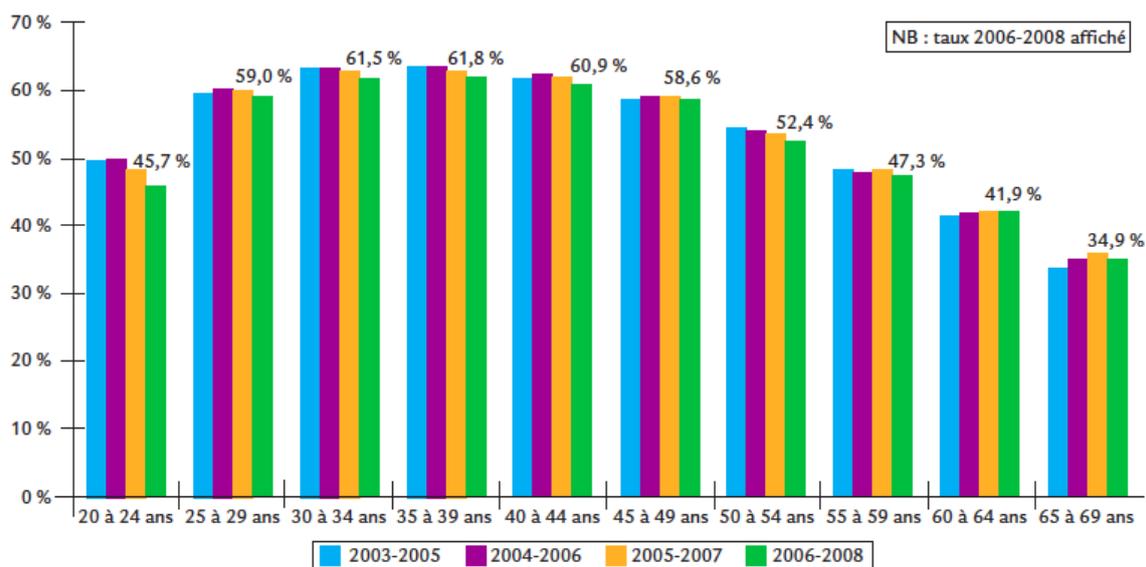


Figure 28. Evolution du taux de femmes ayant bénéficié d'un remboursement de FCU de 2006 à 2008 par tranche d'âge en France parmi les assurées du régime général, d'après HAS (2010).

De plus certaines pratiques ont été mises en évidence grâce à cette étude, comme par exemple un suivi insuffisant pour certaines femmes mais aussi une pratique trop fréquente des FCU pour d'autres (tous les ans ou tous les 2 ans). Ainsi, cette étude a rapporté que le nombre de FCU réalisés en France chaque année permettrait, s'il était mieux réparti, un suivi satisfaisant de l'ensemble de la population féminine ciblée par le dépistage. L'adhésion au dépistage varie également en fonction de la catégorie sociale des patientes. En effet, il y a un recours moindre au FCU dans la population bénéficiant de la Couverture Médicale Universelle complémentaire (CMUc) : seulement 43 % des femmes de moins de 50 ans en bénéficiant ont eu un FCU au cours des 3 dernières années, contre 63

% pour les autres (HAS, 2010). De même, le taux de couverture est plus bas chez les femmes affiliées au Régime Social des Indépendants (RSI ; 54%) ou à la Mutualité Sociale Agricole (MSA ; 51%) (période 2007-2009). La couverture varie aussi en fonction la situation géographique des patientes. Cette différence serait liée aux variations du nombre de femmes bénéficiant de la CMUc ainsi qu'à la difficulté d'accès aux soins notamment due à la faible densité en médecins dans certains départements. Par exemple, le taux de couverture est supérieur à 60% dans les Yvelines alors qu'il reste inférieur à 50% en Seine-Saint-Denis. Enfin, d'autres freins au dépistage par FCU peuvent être d'ordre culturel voire parfois religieux. Le refus de l'examen gynécologique nécessaire au prélèvement du FCU est un motif fréquent de non-adhésion.

Face à la faible couverture du dépistage actuel et pour lutter contre ces disparités, le plan Cancer 2014-2019 recommande la mise en place d'un dépistage organisé au même titre que celui du cancer du sein ou du colon. En effet, l'action 1.1 est de « *permettre à chaque femme de 25 à 65 ans l'accès à un dépistage régulier du cancer du col utérin via un programme national de dépistage organisé. L'objectif est que le taux de couverture du dépistage dans la population cible passe de 50-60 % à 80 % et qu'il soit plus facilement accessible aux populations vulnérables ou les plus éloignées du système de santé* ». De plus, l'action 1.7 est de « *lutter contre les inégalités d'accès et de recours aux programmes de dépistage* ».

Cependant, environ 30% des cancers du col sont diagnostiqués chez des femmes ayant suivi correctement le programme de dépistage. De plus, au Royaume-Uni, malgré une couverture du dépistage par FCU de l'ordre de 79%, l'incidence du cancer du col est de 6,8%, c'est-à-dire quasiment la même qu'en France. N'atteint-on pas dès lors les limites du dépistage du cancer du col par les méthodes cytologiques dès un taux de couverture moyen comme observé en France ?

8.1. Dépistage par cytologie effectuée à partir d'un FCU

8.1.1. Les résultats des FCU

La proportion de frottis non-satisfaisants est un indicateur indirect de la qualité du prélèvement, qui ne dépend pas de l'âge de la femme. Elle est souvent faible, inférieure à 1%.

Le pourcentage de FCU anormaux, c'est-à-dire de sévérité supérieure ou égale à ASC-US pour les lésions malpighiennes, est de l'ordre de 3 à 4%. L'étude CRISAP (Bergeron *et al*, 2005), menée en Ile-de-France en 2002, a montré la prévalence de chacun des types de FCU anormaux selon la classification Bethesda sur plus de 7000 FCU anormaux : la proportion d'ASC-US est la plus importante, devant celle des lésions de type LSIL. Les anomalies de haut grade sont relativement rares (Figure 29).

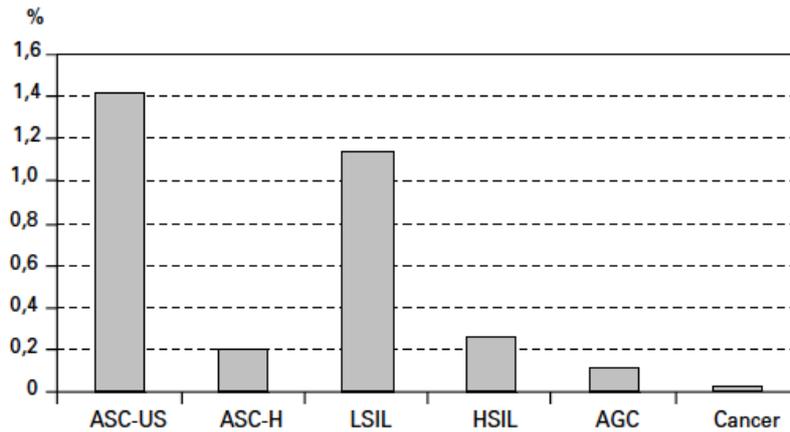


Figure 29. Prévalence des FCU anormaux en Ile-de-France en 2002 (Bergeron *et al*, 2005).

Cependant, le pourcentage des différentes anomalies observées varie fortement en fonction de l'âge. Les LSIL représentent le type d'anomalies le plus dépisté avant 35 ans et les ASC-US après l'âge de 35 ans. Le taux de HSIL augmente à partir de 25 ans : 35 % des HSIL sont diagnostiqués entre 36 et 45 ans et seulement 21 % après 45 ans. Par contre, 38 % des cancers sont diagnostiqués avant 55 ans, leur taux représentant alors moins de 1 % des anomalies.

8.1.2. Les performances des techniques de FCU

La sensibilité clinique d'un test mesure sa capacité à donner un résultat positif lorsque le patient est malade. Pour la détection d'HPV, la sensibilité clinique du test signifie sa capacité à détecter des lésions de haut grade CIN2+. La spécificité clinique d'un test mesure quant à elle la probabilité que ce test soit négatif quand le patient n'est pas malade. Plus la spécificité et la sensibilité sont bonnes, plus leur valeur tend à se rapprocher de 100% et plus le test est performant. La valeur prédictive négative (VPN) correspond à la probabilité que la maladie ne soit pas présente lorsque le test est négatif.

Une étude d'Abulafia *et al* (2003), comparant les performances des cytologies par FCU conventionnel et en phase liquide, rapporte une concordance dans 89% des cas. Cette étude montre une sensibilité globale assez médiocre, de l'ordre de 76% pour la cytologie en phase liquide (Thinprep®) et 68% pour la cytologie conventionnelle. La spécificité est quant à elle supérieure, variant de 86% pour la cytologie en phase liquide (Thinprep®) à 79% pour la cytologie conventionnelle. Une autre étude comparant deux types de cytologies par FCU en phase liquide (Thinprep® et SurePath®) a montré qu'il n'y avait pas de différence de sensibilité entre ces techniques (Cox *et al*, 2004). Les différentes publications disponibles démontrent une large variation de la sensibilité pour les deux types de cytologies mais elle reste assez faible. De nombreuses publications ont conclu qu'il n'y avait pas de différence significative en terme de sensibilité et spécificité pour la détection des lésions CIN2+ entre les cytologies conventionnelle et en milieu liquide (Arbyn *et al*, 2008 ; Ronco *et al*, 2007 ; Singh *et al*, 2015 ; Siebers *et al*, 2009). Ainsi, l'US Preventive Services Task Force et le Medical Services Advisory Committee ont conclu dans leurs recommandations en 2003 à l'absence de preuves suffisantes pour

recommander le FCU en phase liquide en remplacement du FCU conventionnel. Pourtant, la FDA a accordé un agrément pour le FCU en phase liquide Thinprep® dès 1996. Enfin, une autre méta-analyse regroupant plus d'1,5 millions de cytologies (conventionnelles et en phase liquide) a montré qu'il n'y avait pas de différence significative concernant la classification cytologique des résultats, et que le nombre de cytologies non satisfaisantes ne diminuait pas de façon significative contrairement à ce qui était souvent annoncé (Davey *et al*, 2006). Cette étude montre cependant que le nombre de résultats ASC-US est supérieur en cytologie conventionnelle et que le taux de lésions de bas et de haut grade est supérieur avec une cytologie en phase liquide.

En France, l'Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé (ANAES) a confirmé en 2002 qu'il n'y avait pas d'arguments prouvant la supériorité d'un point de vue analytique de la cytologie en phase liquide par rapport à la cytologie conventionnelle. La HAS en 2010 a conclu que les données disponibles ne permettaient pas de privilégier l'une des deux techniques en termes de sensibilité et surtout de spécificité. Il appartient donc à ce jour à chaque centre de santé ou laboratoire de choisir le type de cytologie de dépistage qu'il souhaite privilégier, le montant du remboursement par la Sécurité Sociale étant le même quelle que soit la technique utilisée. Au Royaume-Uni et aux États-Unis, la cytologie en milieu liquide a été privilégiée.

A performances équivalentes, d'autres caractéristiques telles qu'une meilleure reproductibilité, un coût plus faible (technique plus onéreuse mais gain important de temps à la lecture) et la possibilité le cas échéant de réaliser un test HPV à partir du même prélèvement, et donc sans que la patiente ne consulte à nouveau, sont des avantages qui ne sont pas négligeables.

8.2. Place du dépistage par test HPV HR

8.2.1. Les performances

Pour le dépistage primaire, le test HPV est plus sensible que la cytologie pour la détection de lésions CIN2+. Il est cependant moins spécifique, en particulier chez les jeunes femmes de moins de 30-35 ans où il sera souvent positif alors que la cytologie est normale (Agorastos *et al*, 2015 ; Cuzick *et al*, 2006).

	Tous âges	< 35 ans	35–49 ans	> 50 ans
Test HPV				
Sensibilité	96,1	97,2	93,9	97,5
Spécificité	90,7	85,8	92,8	94,2
Cytologie				
Sensibilité	53,0	48,7	55,4	79,3
Spécificité	96,3	94,9	96,8	97,6

Tableau XII. Performances du test HPV HC2 et de la cytologie au seuil de CIN2+, d'après Cuzick *et al* (2006)

Plusieurs méta-analyses (Arbyn *et al*, 2012 ; Cuzick *et al*, 2012) récapitulant les performances et caractéristiques des différentes techniques de dépistage déjà publiées ont montré que la cytologie

avait une sensibilité modérée et une spécificité élevée, alors que les tests HPV ont une sensibilité élevée et une spécificité modérée pour détecter des lésions CIN2+ ou CIN3+.

Le dépistage par test HPV fournirait une protection supérieure de 60 à 70% face au carcinome invasif du col par rapport à la cytologie. De plus, le test HPV permettrait d'espacer l'intervalle entre deux dépistages de 3 à 5 ans chez les femmes de plus de 30 ans du fait de la valeur prédictive négative du test supérieure à 95% (Ronco *et al*, 2013).

L'étude ATHENA (Wright *et al*, 2015) a comparé trois techniques différentes de dépistage du cancer du col : la cytologie seule, le test HPV seul et un dépistage « hybride » utilisant la cytologie de 25 à 29 ans et le dépistage combiné systématique cytologie/test HPV à plus de 30 ans. Cette association est d'ailleurs validée par la FDA aux États-Unis depuis 2003. Quel que soit l'âge de la patiente, la cytologie seule possède la plus grande spécificité, devant la stratégie hybride et le test HPV qui ont des spécificités comparables. La sensibilité la plus importante est celle du test HPV, devant la stratégie hybride et la cytologie (Tableau XIII).

	CIN2+		CIN3+	
	Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
Femmes 25-29 ans				
Cytologie seule	40,6	97,6	47,8	97,1
Stratégie hybride	55,5	95,0	61,7	94,6
Test HPV primaire	69,1	94,0	76,1	93,5
Femmes ≥ 30 ans				
Cytologie seule	40,3	97,9	48	97,7
Stratégie hybride	63,4	95,1	69,3	94,7
Test HPV primaire	64,8	95,2	72,3	94,9

Tableau XIII. Comparaison des performances de trois techniques de dépistage à 3 ans, d'après Wright *et al* (2015)

Les résultats sont plutôt en faveur d'un dépistage primaire par test HPV chez les femmes dès 25 ans, qui semble au moins aussi efficace pour détecter une lésion CIN2+ qu'une stratégie de dépistage hybride ou reposant sur la cytologie (les deux stratégies soutenues par les lignes directrices actuelles). En outre, il nécessite moins de tests de dépistage qu'une stratégie hybride d'emblée.

8.2.2. Les options et les indications

Pour l'instant, l'utilisation du test HPV en dépistage primaire n'est pas recommandée en France, excepté dans le cadre d'études pilotes. L'indication retenue depuis 2002 est le FCU de type ASC-US. Selon les conclusions de la HAS, les performances diagnostiques des deux tests (test HPV et test cytologique) sont équivalentes dès lors qu'ils sont répétés dans le temps, en particulier chez les femmes de plus de 30 ans, chez qui un test positif a plus de risque d'être le résultat d'une infection persistante. De nouvelles recommandations vont cependant être prochainement publiées par

l'Institut National du Cancer (INCa) et conduire à élargir l'indication des tests HPV. Actuellement en Europe, deux pays se sont prononcés pour un dépistage primaire par test HPV : les Pays-Bas et la Finlande. L'Australie a également fait ce choix.

En cas de FCU anormal, la HAS recommande une prise en charge spécifique en fonction du type de lésions observées. Jusqu'à présent en France, en cas de frottis ASC-US, trois possibilités s'offrent au clinicien (Figure 30): une coloscopie d'emblée, un contrôle cytologique à 6 mois ou la recherche d'HPV HR par biologie moléculaire. En cas de positivité des deux dernières options, une coloscopie s'impose. En cas de négativité, un contrôle cytologique doit être effectué un an plus tard : s'il est négatif un dépistage traditionnel est repris (FCU tous les trois ans), s'il est positif, une coloscopie doit être pratiquée. Les futures recommandations proposées par l'INCa vont restreindre les possibilités puisque la coloscopie d'emblée et la cytologie à 6 mois ne devraient plus faire partie des options.

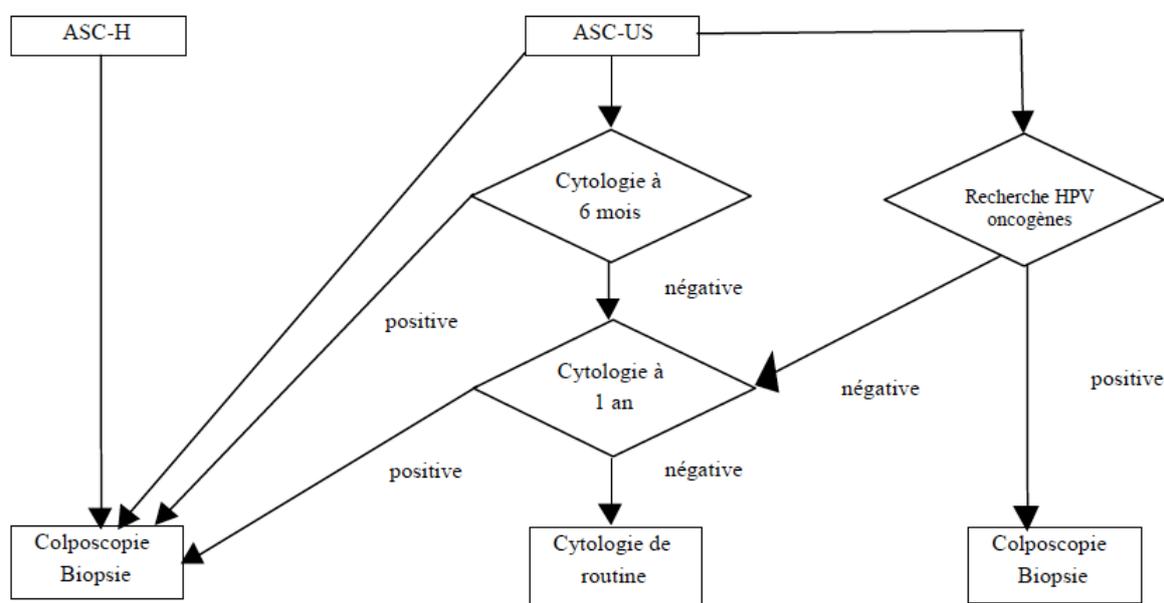


Figure 30. Prise en charge des FCU anormaux type ASC selon les recommandation de l' ANAES (2002)

Jusqu'à présent, deux politiques de dépistage intégrant le test HPV ont été proposées:

- le dépistage dit combiné qui associe d'emblée le FCU au test HPV

Les auteurs concluaient que le dépistage combiné chez les femmes à partir de 30 ans permet d'une part le dépistage plus précoce des CIN2+ tout en réduisant le risque de CIN2+ au cours d'un dépistage suivi, et d'autre part d'espacer en toute sécurité l'intervalle entre deux dépistages de 3 à 5 ans. En effet, le très faible taux de faux-négatifs du dépistage par l'association cytologie-virologie permet de proposer en toute sécurité l'augmentation de l'intervalle entre deux dépistages. La VPN très élevée de cette association cyto-virologique de première intention est un élément déterminant (variable de 99 à 100% selon les études, d'après Riethmuller *et al*, 2007). Toutefois, l'association

systematique des deux méthodes de dépistage en primaire pose un important problème de coût (en particulier dans un programme organisé) et ne semble pas plus performante qu'un test HPV seul (Wright *et al*, 2015). C'est probablement pourquoi, à ce jour, aucun pays d'Europe n'a recommandé cette option.

Aux Etat-Unis, les recommandations portent sur un dépistage uniquement cytologique en phase liquide de 21 à 29 ans, puis sur un dépistage combiné associant d'emblée test HPV et cytologie à partir de 30 ans (tous les 5 ans). En cas de test HPV positif à HPV16 et/ou 18, un contrôle est réalisé un an plus tard : s'il est toujours présent, une colposcopie doit être envisagée. Ce dépistage hybride est mis en place depuis 2014.

Management of Women \geq Age 30, who are Cytology Negative, but HPV Positive

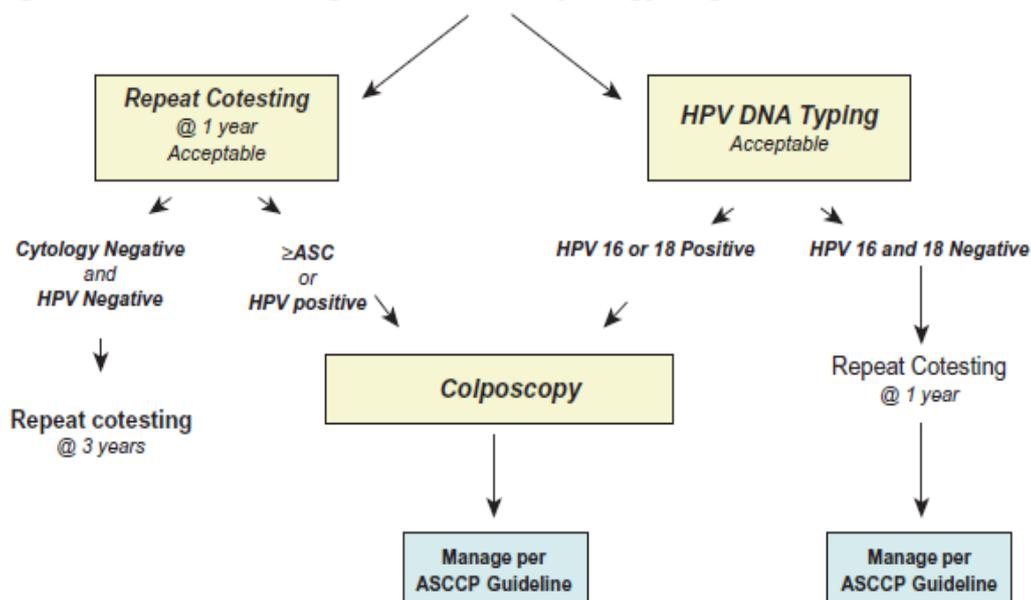


Figure 31. Recommandations américaines en cas de dépistage cytologique négatif associé à un test HPV+ (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, 2013).

- le test HPV en première intention, avec un triage par cytologie si le test HPV est positif.

Les résultats plusieurs études (dont Cox *et al*, 2013) sont en faveur de l'utilisation du seul test HPV avec génotypage HPV16/18 en dépistage primaire, avec un FCU comme outil de triage pour les femmes dont le test HPV est positif. La cytologie, par sa très bonne spécificité, représente une excellente méthode de triage des tests viraux positifs d'un dépistage primaire. Ce nouveau paradigme de dépistage serait justifié par la sensibilité élevée du test HPV tandis que sa moins bonne spécificité serait rattrapée par celle élevée de la cytologie.

8.3. Le dépistage organisé (DO)

8.3.1. Le DO : nouvelle piste en France pour augmenter la couverture

Depuis 2010, 13 départements français (4 pérennes : Bas-Rhin, Haut-Rhin, Isère et Martinique ; 9 expérimentaux : Allier, Puy-de-Dôme, Cantal, Haute-Loire, Cher, Indre-et-Loire, Maine-et-Loire,

Réunion et Val-de-Marne) testent une expérimentation pilote de dépistage du cancer du col de l'utérus avant d'envisager sa généralisation au niveau national. La population-cible représentait 13,4% de la population-cible française (environ 2,37 millions de femmes de 25-65 ans) et la répartition des tranches d'âge était très proche de celle retrouvée au niveau national. Le modèle mis en œuvre en Alsace depuis 1994 a été retenu pour cette étude. Il consiste d'une part à inciter (par incitations successives) sur une période de 3 ans les femmes de 25 à 65 ans révolus n'ayant pas réalisé de FCU depuis 3 ans et, d'autre part, à recueillir la totalité des résultats des femmes ayant réalisé un dépistage individuel ou un FCU suite à l'incitation. Ce programme s'assure également que les femmes ayant des FCU avec anomalies soient prises en charge par la suite.

Les premiers résultats de l'évaluation des 13 départements organisant le dépistage du cancer du col en France montrent que, si aucun département n'a atteint les 80% de couverture de dépistage sur 3 ans inscrits dans la loi de santé publique de 2004, les départements métropolitains pérennes (Bas-Rhin, Haut-Rhin, Isère) dépassent les 70%. En revanche, les départements expérimentaux ont des taux plus bas, entre 51,3 et 64,6%, mais qui ont augmenté, ce qui est en faveur d'un effet entraînant de l'organisation du dépistage basée sur l'incitation et la relance des femmes qui ne se font pas spontanément dépister. La part de couverture gagnée de 13,2 points attribuable au DO peut être considérée comme encourageante.

Une organisation mêlant dépistage organisé, avec des relances et des incitations régulières aux femmes non répondeuses au dépistage individuel et spontané, et utilisation d'auto-prélèvements pourrait ainsi être un bon compromis afin de rattraper une grande partie de la population échappant aujourd'hui au dépistage spontané par FCU.

8.3.2. Etat des lieux du DO en Europe (d'après Garnier *et al*, BEH 2014)

Le DO du cancer du col de l'utérus est soutenu depuis 2003 par une recommandation du conseil de l'Union Européenne (UE) et par la publication de préconisations pour l'assurance-qualité des dépistages à tous les niveaux. En Europe, 14 pays ont un programme national de DO du cancer du col de l'utérus, dont 7 depuis plus de vingt ans (Danemark, Finlande, Islande, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni et Suède). Sept pays, dont la France, développent des programmes régionaux alors que 11 pays disposent encore uniquement d'un dépistage spontané individuel volontaire ou lié à l'attente de la mise en place d'un programme de DO (comme en Bulgarie par exemple).

Les modalités de dépistage sont hétérogènes : le principal test utilisé à ce jour en Europe est la cytologie, alors que les Pays-Bas et la Finlande se sont prononcés en faveur d'un dépistage par test HPV (respectivement en 2011 et 2012). En Finlande, la population-cible est invitée à un dépistage par FCU à 25 et 30 ans, puis tous les 5 ans à partir de 35 ans jusqu'à 65 ans pour un test HPV (Nieminen *et al*, 2012). Certains programmes utilisent aussi une combinaison de tests : dépistage combiné en

Castille et Léon (Espagne), colposcopie associée d'emblée au FCU en Hongrie (Anttila *et al*, 2004). Les stratégies organisationnelles, notamment l'intervalle entre deux tests normaux, ne sont pas uniformes entre les différents pays et parfois au sein d'un même pays, entraînant des taux de couverture assez variables. Les comparaisons entre ces différentes pratiques sont donc assez délicates.

Les programmes de DO ayant cependant les taux de couverture les plus élevés dans leur population cible sont les programmes nationaux les plus anciens (sept pays sur huit ont un taux de couverture supérieur à 75%). Par exemple, au Royaume-Uni, le taux de couverture grâce un dépistage par FCU à 3 ans est de 79%. Lorsque le programme de DO n'est que partiel, il est possible de déterminer le pourcentage de femmes de la population cible totale concernée par le programme de DO. Il existe une grande disparité de la population ciblée par le DO selon les pays: elle va de 4% en Autriche à 58% en Belgique.

Il existe différentes méthodes de relance, et une étude a permis de montrer que les méthodes les plus efficaces pour augmenter la participation ont été l'envoi d'une lettre personnalisée de relance, l'apposition de la signature du médecin traitant sur le courrier de rappel et surtout l'envoi d'un kit d'auto-prélèvement destiné à la recherche des HPV oncogènes (Camilloni *et al*, 2013).

8.4. L'alternative au FCU : l'auto-prélèvement

Plusieurs études s'intéressent à l'auto-prélèvement vaginal ou cervico-vaginal comme alternative au FCU pour le dépistage du cancer du col de l'utérus. Les auto-prélèvements les plus couramment testés dans cette optique sont les auto-prélèvements vaginaux par écouvillonnage ou cervico-vaginaux par dispositif de lavage local (type Mermaid®, Delphi-screener®, Pantarhei-screener®). Le dépistage des HPV HR dans l'urine collectée par la patiente est une autre voie de recherche en cours.

L'intérêt des auto-prélèvements repose sur leur association au dépistage par test HPV, car les échantillons cervico-vaginaux ou urinaires obtenus ne se prêtent pas à un examen cytologique habituel. Les tests HPV peuvent être réalisés sur des auto-prélèvements avec une sensibilité comparable à celle obtenue sur des FCU (Tableau XIV) à condition d'utiliser des techniques sensibles (type PCR et non basées sur la détection d'un signal comme HC2, car ce dernier perd en sensibilité par rapport à un prélèvement fait par un clinicien), ce qui constitue une option particulièrement intéressante pour améliorer la participation au dépistage (Snijders *et al*, 2012 ; Arbyn *et al*, 2014).

		Sensibilité		Spécificité	
		CIN2+	CIN3+	CIN2+	CIN3+
Auto-prélèvement					
	Test HPV	76%	84%	86%	87%
Prélèvement réalisé par un clinicien					
	Test HPV	91%	95%	88%	89%
	Cytologie	ASC-US ou plus	83%	91%	89%
		LSIL ou plus	71%	78%	97%

Tableau XIV. Sensibilité et spécificité moyennes des tests HPV pour détecter une lésion CIN2+ ou CIN3+ en dépistage primaire, d'après la méta-analyse d'Arbyn *et al* (2014)

8.4.1. L'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage

L'auto-prélèvement vaginal peut être réalisé à partir de différentes sortes d'écouvillons. Ceux-ci peuvent être simples ou floqués permettant de récupérer davantage de cellules épithéliales, secs ou accompagnés d'un milieu de transport spécifique facilitant la conservation du prélèvement.

Dans certaines études, l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage apparaît aussi sensible que le FCU effectué par un clinicien pour détecter un HPV HR par test HPV (Snijders *et al*, 2013) ou pour détecter une lésion CIN2+ comparé à la cytologie (Lazcano-Ponce *et al*, 2011). Une méta-analyse de 36 études comparant le test HPV réalisé à partir différents types d'auto-prélèvement à celui réalisé par un clinicien, réalisée par Arbyn *et al* en 2014, a montré des résultats proches de ceux obtenus en dépistage primaire à partir de prélèvements faits par un clinicien, avec une sensibilité relative de 88% pour le dépistage des CIN2+ et 89% pour le dépistage des CIN3+. La spécificité relative est la même pour les CIN2+ ou CIN3+, établie à 96%. Cette méta-analyse a confirmé que les tests HPV basés sur la détection d'un signal (type HC2) sont significativement moins sensibles que ceux basés sur des techniques PCR pour détecter une lésion de haut grade à partir d'un auto-prélèvement.

Il a été montré que les auto-prélèvements par écouvillons sec ou écouvillons avec milieu de transport avaient une sensibilité (respectivement 88,7 et 87,4%) et une spécificité (respectivement 92,5 et 90,9%) proches pour détecter un HPV HR (Haguenoer *et al*, 2014). Ces deux techniques de prélèvement semblent donc être des méthodes équivalentes pour détecter des infections cervicales à HPV. Une autre étude a confirmé des résultats proches entre les deux prélèvements dès les CIN1, et montré que les femmes trouvaient ces deux méthodes très acceptables (Eperon *et al*, 2013).

8.4.2. L'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal, type Delphi-screener®

L'auto-prélèvement basé sur un lavage local du col est une approche plus couteuse que celui réalisé à partir d'un écouvillonnage vaginal. Cette technique est basée sur un meilleur ciblage du prélèvement, qui est alors dirigé vers le col de l'utérus : on parle alors de prélèvement cervico-vaginal. Cependant, l'utilisation du matériel peut paraître plus fastidieuse et nécessite une bonne

compréhension de la part de la patiente. En 2013, une nouvelle génération de dispositifs de lavage a été commercialisée, avec une ergonomie repensée mais aux performances égales à l'ancienne génération (Verhoef *et al*, 2013).

Une étude réalisée aux Pays-Bas, comparant un test HPV réalisé sur auto-prélèvement par lavage local type Delphi-screener® et la cytologie en milieu liquide effectué par un clinicien, a montré qu'il y avait une bonne concordance entre les deux types d'échantillon avec des sensibilités proches (92 et 95% pour des CIN2+). Cependant, l'utilisation d'un dispositif de lavage n'est pas performante pour la cytologie (Brink *et al*, 2006). Une étude menée en Allemagne auprès de très nombreuses femmes a montré qu'en plus de sa bonne sensibilité analytique, le prélèvement par Delphi-screener® avait été bien accepté par la cohorte (Castell *et al*, 2014).

8.4.3. Le prélèvement urinaire

Les HPV sont détectés dans l'urine d'une grande proportion de patientes ayant une CIN2+, avec une prévalence augmentant parallèlement à la sévérité des lésions. Dans une étude parue récemment portant sur 75 femmes âgées de 24 à 61 ans, des HPV HR étaient détectés (par la technique Linear Array®, Roche) dans 69,3% des CIN2+ et 78,1% des CIN3 (Nicolau *et al*, 2015). La détection d'HPV dans l'urine serait due au relargage des cellules infectées par HPV exfoliées dans les urines. Une prévalence supérieure d'HPV dans les urines pourrait être la conséquence de la présence d'ADN d'HPV provenant de la vulve ou de l'urètre, ces tissus étant aussi le siège d'infections à HPV. Par ailleurs, la sensibilité des tests HPV est supérieure sur le premier jet d'urine comparé au milieu de jet (Pathak *et al*, 2014 ; Senkomago *et al*, 2015).

Plusieurs études comparant les résultats d'un test HPV sur un prélèvement cervical effectué par un clinicien et sur un prélèvement urinaire réalisés chez les mêmes patientes ont montré qu'il y avait une grande concordance, respectivement 90,5% (Bernal *et al*, 2014) et 91,2% (Payan *et al*, 2007), pour la détection d'HPV entre les deux prélèvements. Le choix du test HPV a également un impact. Dans une étude réalisée sur 125 patientes dont 20 ayant une CIN2+, la sensibilité et la spécificité du test de PCR en temps réel Cobas 4800 HPV de Roche sont similaires pour les échantillons urinaires et cervicaux pour détecter les CIN2+ (Bernal *et al*, 2014). Cependant, une autre étude (Stanczuk *et al*, 2015) a montré que la sensibilité clinique du test Cobas 4800 HPV était de 80% sur le prélèvement urinaire contre 92% sur un auto-prélèvement vaginal ou sur une cytologie en phase liquide réalisée par le clinicien pour détecter une CIN2+.

Sahasrabuddhe *et al* (2014) ont comparé l'utilisation d'un prélèvement urinaire à des prélèvements cervicaux et vulvaires chez 72 patientes bénéficiant d'une colposcopie. Les résultats montrent que plus le signal PCR est fort sur les prélèvements cervicaux et vulvaires, plus la fréquence de détection d'HPV dans le prélèvement urinaire est forte. Bien que les taux de détection dans l'urine soient légèrement plus faibles ici, les performances cliniques y sont comparables.

Malgré une sensibilité pouvant être plus faible, certains auteurs considèrent que les performances cliniques des tests HPV sont acceptables sur un échantillon d'urine mais les preuves apparaissent insuffisantes. Une méta-analyse de Pathak *et al* (2014) a montré que la détection d'HPV HR + BR dans l'urine avait une sensibilité et une spécificité globales de 87% et 94% respectivement, que celle des HPV HR avait une sensibilité et une spécificité de 77% et 88% respectivement, et que celle des HPV16 et 18 possédait une sensibilité de 73% et une spécificité de 98% par rapport à un test réalisé par un clinicien. Cependant, les études prises en compte reposent sur des méthodes hétérogènes, aussi bien pour le traitement de l'urine que pour la technique de détection des HPV choisie, ce qui affecte l'interprétation des résultats. L'uniformisation des procédés pour la détection d'HPV dans l'urine doit donc être développée dans les années à venir et le suivi des patientes doit être mis en place dans des études comportant un nombre très important de femmes.

Le prélèvement urinaire permettrait un gain non négligeable en couverture de dépistage. L'étude CapU réalisée dans le Maine-et-Loire a montré, en proposant un dépistage par prélèvement urinaire à des femmes non répondeuses au dépistage par FCU, que le gain en couverture était de l'ordre de 13,7% (Ducancelle *et al*, 2015). Ainsi, le dépistage d'HPV HR sur prélèvement urinaire pourrait compenser ses moindres performances en permettant de dépister davantage de femmes ne suivant pas les recommandations. De plus, de par son caractère non invasif et très simple à réaliser, le recueil d'urine permettrait de fournir un dépistage aux femmes défavorisées, privées d'accès à des gynécologues (notamment en zone rurale) ou qui refusent les FCU invasifs (Pathak *et al*, 2014). Cependant, les contraintes de l'envoi par courrier de ce type de prélèvement (emballage, conservation, coût) sont supérieures à celles l'envoi d'un écouvillon.

8.4.4. Etudes en France

Quatre études ont été effectuées en France concernant la pratique du dépistage du cancer du col par auto-prélèvement ou prélèvement urinaire comme alternative à la cytologie chez les personnes ne répondant pas au FCU.

- Etude de Piana *et al* (2011) dans les Bouches du Rhône

Cette étude a comparé, chez près de 10 000 femmes de 35 à 69 ans sans dépistage individuel et n'ayant pas répondu à une première invitation au FCU, la participation à l'auto-prélèvement vaginal à domicile à celle d'une seconde invitation à réaliser un FCU. Les femmes ont davantage participé à l'auto-prélèvement vaginal à domicile (26,6 %) qu'à une seconde invitation au FCU (7,2 %). Cette différence est nettement significative et suggère une bonne acceptation de l'auto-prélèvement vaginal.

- Etude de Tamalet *et al* (2012) dans les Bouches du Rhône

L'objectif de cette étude était d'évaluer le taux de participation à l'auto-prélèvement vaginal et la qualité de l'auto-prélèvement (ainsi que la prévalence des types d'HPV HR) dans une population de

22702 femmes défavorisées de Marseille. Le taux de participation était de 18,7% et le nombre de prélèvements ininterprétables était très faible (<1%) : l'auto-prélèvement vaginal permet d'accroître la participation au dépistage du cancer du col.

- Etude de Dalstein *et al* (2013) dans les Ardennes

Le programme pilote START-HPV a testé, de 2012 à 2014, dans une population âgée de 31 à 65 ans n'ayant pas fait de FCU depuis 3 ans, les conditions pratiques de mise en place de l'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal à l'aide du Delphi-screener® versus un test HPV réalisé sur un FCU en dépistage primaire des lésions précancéreuses et cancéreuses du col, à partir d'une invitation et avec triage cytologique en cas de résultat HPV positif. L'invitation initiale et la relance 1 proposaient un dépistage par test HPV sur FCU alors que la relance 2 prévoyait une randomisation entre un test HPV sur FCU et un test HPV sur auto-prélèvement. Dans le bras auto-prélèvement, les femmes recevaient par la poste un bon pour retirer le Delphi-screener® en pharmacie. Les résultats de la relance 2 ne sont pas encore publiés, mais le taux de participation après la relance 1 est faible, de l'ordre de 6,1%. L'invitation initiale et la relance 1 proposent un FCU fait par le clinicien, ce qui n'est pas différent du dépistage organisé pratiqué actuellement, d'où ce faible taux de participation. La couverture de dépistage dans les Ardennes était de 47,1% en 2006-2008.

- Etude CapU dans le Maine et Loire (Ducancelle *et al*, 2015)

Déjà évoquée précédemment, cette étude a permis d'augmenter la couverture de dépistage de 13,4% dans une population de 5000 femmes âgées de 40 à 65 ans non répondeuses à l'invitation au FCU. Parmi les 678 prélèvements étudiés, 29 étaient positifs pour HPV (dont 6 HPV16 et 1 HPV18). Les investigations complémentaires ont permis de confirmer 3 lésions stade CIN3.

Au final, pour les études ayant recherché un gain en couverture de dépistage du cancer du col, une relance ou une incitation de la population non répondeuse à réaliser un auto-prélèvement a toujours permis un gain significatif de participation (notamment chez les femmes les plus jeunes) même s'il est difficile de prédire l'impact réel de cette participation sur l'augmentation potentielle de la couverture de dépistage. De plus, il semble compliqué de comparer les gains en couverture des différentes études car les populations sont différentes. Cependant, l'utilisation d'un auto-prélèvement pour réaliser un test HPV augmenterait l'efficacité du programme de dépistage, particulièrement en ciblant une partie importante femmes qui ne sont pas ou pas régulièrement dépistées, et donc plus à même de présenter une lésion CIN2+ (Gök *et al*, 2012). L'auto-prélèvement est actuellement considéré comme un outil additionnel en devenir pour améliorer le taux de couverture du dépistage du cancer du col, notamment dans les déserts médicaux ou pour toucher les femmes réticentes au dépistage par FCU.

8.4.5. Acceptation de l'auto-prélèvement

Plusieurs études dans différents pays (Italie, Pays-Bas, Finlande, Etats-Unis) évaluant le degré d'acceptabilité de l'auto-prélèvement par lavage ou par écouvillonnage comparé à un prélèvement réalisé par le clinicien ont montré que la plupart des femmes (68 à 80% selon les publications) préfèrent l'auto-prélèvement par rapport au prélèvement réalisé par le clinicien (Igidbashian *et al*, 2011 ; Bosgraaf *et al*, 2015 ; Virtanen *et al*, 2014 ; Jones *et al* ; 2012). L'auto-prélèvement est généralement bien accepté, réalisé sans trop de gêne, décrit comme peu douloureux et facile à réaliser.

Une étude australienne de Mullins *et al* (2014) a montré que la préférence pour l'auto-prélèvement est significativement plus forte chez les femmes qui n'ont pas eu de FCU depuis plus de 3 ans (64,8%) ou qui n'en ont jamais eu (62,1%), par rapport à celles qui le pratiquent (27,0%). La commodité était considérée comme un avantage clé (37,8%), tout comme le moindre embarras (31,5%). Parmi les réticentes, les principaux facteurs étaient des doutes sur la possibilité de le faire correctement et un niveau professionnel supérieur (ces femmes adhérant davantage au dépistage spontané).

Une étude menée à Madagascar comparant l'acceptabilité pour l'auto-prélèvement entre une population urbaine et une population rurale a montré qu'il n'y avait aucune différence d'acceptabilité entre ces deux groupes, malgré les différences socio-économiques et des connaissances opposées sur le cancer du col (Broquet *et al*, 2015)

Enfin, une étude française a montré que si l'auto-prélèvement était beaucoup mieux accepté que le FCU chez les femmes de bas niveau socio-économique non répondeuses au dépistage traditionnel, cette population participait malgré tout moins qu'une population de niveau socio-économique supérieur (18,2% versus 26,4%) (Sancho-Garnier *et al*, 2013). Ces deux taux de participation sont inférieurs à ceux observés lors de deux études hollandaise et suédoise, mais identiques à ceux notés dans une étude italienne (Bais *et al*, 2006 ; Sanner *et al*, 2009 ; Giorgio Rossi *et al*, 2011). De même, l'étude finlandaise de Virtanen *et al* (2014) a montré que davantage d'expériences négatives avec l'auto-prélèvement étaient rapportées par des femmes immigrées. Cela montre qu'il existe également de grandes disparités d'acceptabilité selon les pays étudiés et l'origine des patientes.

IV. Travail expérimental :

Etude SELFIPUR

1. Objectifs

L'objectif principal de l'étude pilote SELFIPUR était de déterminer l'acceptabilité et la faisabilité de deux types d'auto-prélèvement vaginal (un écouvillonnage et un lavage cervico-vaginal par Delphi-screener®) et du prélèvement urinaire, pour la recherche des HPV HR, comme alternative au dépistage cytologique du cancer du col de l'utérus.

L'objectif secondaire était de comparer la sensibilité de détection des HPV dans les trois types de prélèvements. Enfin, cette étude pilote a permis d'évaluation d'un auto-questionnaire pour une étude ultérieure à plus large échelle.

2. Patientes

L'étude pilote SELFIPUR a été proposée aux femmes travaillant au sein du pôle BIOSPHARM (Biologie, Pharmacie et Santé Publique) du CHU de Poitiers. Les critères d'inclusion étaient d'être de sexe féminin, d'avoir entre 25 et 65 ans et de ne pas être enceinte. La vaccination contre HPV n'était pas un critère d'exclusion.

3. Matériel

Chacune des femmes a eu à disposition un kit rassemblant :

- Le matériel pour réaliser les différents prélèvements :
 - Un pot stérile pour le recueil des urines, dans lequel les patientes devaient déposer un premier jet d'urine après une stase urinaire supérieure à 2 heures,
 - Un écouvillon d'auto-prélèvement vaginal floqué associé à un milieu de transport UTM (Copan) validé pour la biologie moléculaire,
 - Un dispositif d'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal, Delphi-screener® (Bioscience), validé également pour la biologie moléculaire. Ce dispositif permet, une fois inséré dans le vagin jusqu'au col de l'utérus, un lavage local du col de l'utérus par libération et ré-aspiration d'un liquide dédié (Figure 32). Ces dispositifs nous ont été fournis gracieusement par le Pr Christine Clavel et le Dr Véronique Dalstein du CHU de Reims qui sont investigatrices de l'étude START-HPV réalisée dans les Ardennes.



Figure 32. Delphi-screener® (www.delphiscreener.com)

- Le questionnaire à remplir après avoir effectué les prélèvements.
- Deux fiches informatives, l'une au sujet de l'étude, l'autre récapitulant comment procéder pour effectuer les différents auto-prélèvements et dans quelles conditions.
- Un sac spécifique pour transport de matériel infectieux (*Safetybag*) dans lequel tous les prélèvements étaient déposés.

4. Méthodes

4.1. Information et consentement

Chaque patiente a reçu une information éclairée lors de plusieurs réunions d'information auxquelles était convié le personnel féminin du pôle (personnel technique, médical et administratif). Des questions pouvaient être posées lors des réunions et également en entretien privé avec un médecin biologiste de l'Unité fonctionnelle de Virologie et Mycobactériologie. De plus, des notes d'information ont été affichées dans les différents services (voir Annexe 1). Enfin, une fiche d'information a été également distribuée avec le kit de prélèvement (voir Annexe 2). La date de démarrage de l'étude a été diffusée par mail aux différents cadres des services.

L'étude étant entièrement anonyme, aucun consentement écrit n'a été recueilli. Il a été considéré que le fait de prendre un kit, de réaliser les prélèvements et de les rapporter constituait de fait un consentement pour participer à l'étude.

4.2. Questionnaire

Un questionnaire portant le même numéro que le kit était associé au matériel de prélèvement. Les données recueillies concernaient notamment l'âge, le nombre d'enfants, le suivi gynécologique de la patiente, la modalité de contraception, la pratique du FCU pour le dépistage du cancer du col de l'utérus ainsi que le ressenti vis-à-vis de chacun des auto-prélèvements proposés (voir Annexe 3).

4.3. Distribution des kits et recueil des prélèvements

Chaque patiente souhaitant participer à l'étude récupérait un des kits numérotés mis librement à disposition dans des caisses plastiques situées au sein des différents services du pôle (3 au laboratoire, une à la pharmacie, une dans le service de stérilisation). Elle effectuait les prélèvements selon les recommandations indiquées lors des réunions et sur la fiche jointe au kit (voir Annexe 2). Si les prélèvements n'étaient pas faits le matin même du transport au laboratoire, ils étaient conservés à 4°C au domicile de la patiente. Les prélèvements et le questionnaire étaient déposés dans une

panière de recueil située à côté des caisses de distribution. En fin de matinée, les prélèvements étaient récupérés et transportés dans le laboratoire (Unité Fonctionnelle de Microbiologie Moléculaire et Séquençage).

4.4. Anonymisation et saisie des données

Les kits de prélèvements ainsi que le questionnaire portaient un même numéro. Seule la patiente connaissait le numéro de son propre kit. Les données recueillies et les résultats des tests HPV ont été saisis dans un tableau Excel.

4.5. Rendu des résultats

Les résultats, qu'ils soient normaux ou pathologiques, étaient rendus anonymement, dans une enveloppe fermée portant le numéro du kit distribué. Cette enveloppe était déposée dans une panière dédiée située au niveau de chaque zone de dépôt ; les patientes venaient la chercher quand elles le souhaitaient. En cas de résultat anormal, une fiche d'information était jointe au compte-rendu avec une explication sur les résultats et sur la démarche à suivre. Les patientes étaient informées de la possibilité de joindre par téléphone ou de rencontrer un médecin biologiste de l'Unité de Virologie et Mycobactériologie pour plus d'explications.

4.6. Suivi des résultats anormaux

En cas de détection d'un ou plusieurs HPV, la réalisation d'un FCU par un professionnel de santé habilité était recommandée. Il était proposé de nous communiquer les résultats de la cytologie, toujours de façon anonyme, en photocopiant leur compte rendu d'anatomo-pathologie et en y inscrivant leur numéro d'inclusion dans l'étude à la place de leurs coordonnées.

4.7. Traitement des échantillons

Les auto-prélèvements et l'urine, une fois réceptionnés au laboratoire, pouvaient être conservés jusqu'à une semaine au réfrigérateur (2 à 8°C) avant d'être analysés.

Une détection du génome viral de 28 génotypes d'HPV (HR et BR) a été réalisée après extraction d'ADN à partir des trois prélèvements de chacune des participantes, grâce au test *Anyplex II HPV28 Detection* (Seegene). Cette trousse permet à la fois la détection et le génotypage des HPV recherchés.

4.7.1. Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide de l'extracteur EasyMag® (Biomérieux) et de la trousse Nuclisens® (Biomérieux). Cet automate utilise un tampon de lyse cellulaire et des particules de silice micronisée ayant une affinité pour les acides nucléiques, déposés dans des navettes pour réaliser

l'extraction, celle-ci ayant un protocole pré-programmé (Protocole *Specific B*) dans le logiciel EasyMag®.

Les prises d'essai étaient de 1ml pour le prélèvement urinaire, 1 ml pour le liquide de recueil du prélèvement par Delphi-screener® et 200 µL pour le milieu UTM contenant l'écouvillon d'auto-prélèvement vaginal. Le volume d'éluion était de 50 µL.

4.7.2. Amplification de l'ADN

La trousse *Anyplex II HPV28 Detection* permet la détection semi-quantitative par PCR en temps réel et le génotypage de 28 génotypes d'HPV dont :

- Les 12 HPV de classe 1 (oncogènes) : HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 et 59
- Le seul HPV de classe 2A (probablement oncogène) : HPV68
- 7 HPV de classe 2B (possiblement oncogènes) : HPV26, 53, 66, 69, 70, 73 et 82
- 8 HPV à bas risque oncogène : HPV6, 11, 40, 42, 43, 44, 54 et 61

La cible correspond au gène de la protéine majeure de capsid L1. Le contrôle interne (IC), endogène, correspond au gène de la bêta-globine humaine, amplifié simultanément, ce qui permet de vérifier notamment la cellularité du prélèvement.

➤ Principe de la PCR en temps réel et particularités de la trousse *Anyplex II HPV28 Detection*

La PCR en temps réel utilisant la chimie des sondes repose sur la possibilité de suivre au cours du temps la production des produits d'amplification, à l'aide de la détection de fluorescence. En théorie, chaque molécule est dupliquée à chaque cycle et on devrait obtenir 2^n molécules au bout de n cycles. Les données de fluorescence sont collectées à chaque cycle de la PCR. Plus l'échantillon est concentré en ADN cible à l'origine, moins il faudra de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal fluorescent est significativement supérieur au bruit de fond. Ce point est défini comme le cycle seuil ou Ct (pour *Cycle threshold*) et apparaît en début de phase exponentielle. Si l'on suit la fluorescence au cours du temps d'une PCR en temps réel, on observe 3 phases distinctes (Figure 33) :

- Phase d'initiation : La quantité de produits amplifiés est insuffisante pour générer un signal fluorescent supérieur au bruit de fond (et donc la fluorescence générée).
- Phase exponentielle : La quantité de produits amplifiés génère un signal fluorescent supérieur au seuil de détection de l'appareil. En coordonnées logarithmiques, cette phase est représentée par une droite. C'est pendant cette phase que la quantification est possible.
- Phase de plateau (ou de saturation) : certains composants de la réaction deviennent limitants. Le système ne permet plus une amplification exponentielle.

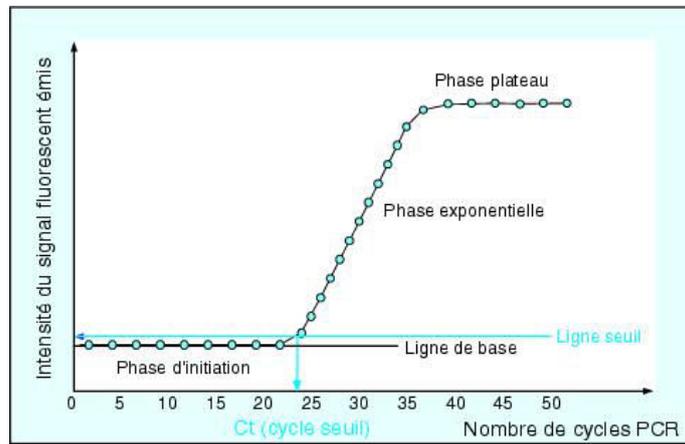


Figure 33. Les différentes phases de la PCR

La fluorescence est émise soit par un agent intercalant (ex : *SYBR green*) qui s'incorpore dans les doubles brins d'ADN, soit, le plus souvent, par une sonde spécifique de la séquence cible (Figure 34). Les sondes les plus fréquemment utilisées sont les sondes d'hybridation, couramment appelées sondes TaqMan®. Elles sont marquées en 5' par un fluorochrome appelé le rapporteur (R) et en 3' par une molécule le plus souvent non fluorescente, appelée le *quencher* (Q). En solution, la fluorescence émise par le rapporteur après stimulation est absorbée par le *quencher* et aucune fluorescence spécifique n'est mesurée. Lors de l'élongation des amorces par la Taq Polymérase, la sonde qui s'est hybridée sur sa cible va être clivée et le rapporteur est alors détaché du *quencher*, rendant la mesure de la fluorescence émise par le rapporteur détectable (Figure 34).

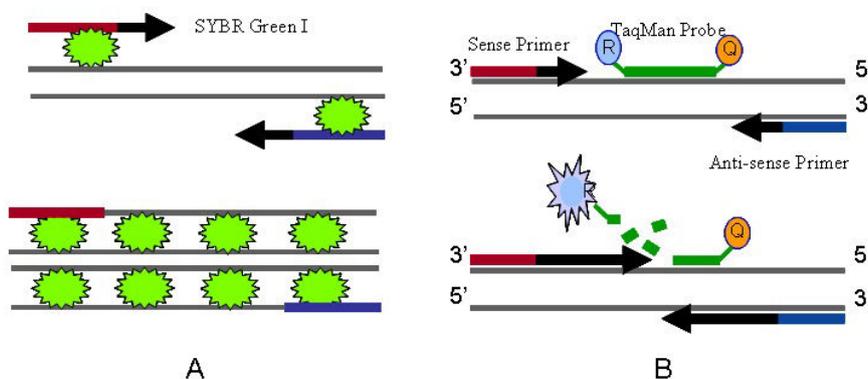


Figure 34. PCR en temps réel. A. Chimie des intercalants ; B. Chimie des sondes d'hybridation.

La détection des HPV par le kit Anyplex HPV 28 correspond à une PCR multiplexe en temps réel particulière dont le principe repose sur une détection semi-quantitative grâce à la technique CMTA cyclique (*Catcher Melting Temperature Analysis*). Associée à la technologie TOCE (*Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension*), cette technique permet de discriminer les différents pathogènes détectés dans un même canal fluorescent grâce à l'analyse à 3 reprises de la courbe de fusion (Tableau XV, Figure 35). Cela permet de quantifier les HPV de façon semi-quantitative (+++, ++, + ou indétectable) selon le cycle de détection du signal (cycles 30, 40, 50) (Figure 36).

Fluorophore	Mix A	Mix B
FAM	HPV 68 - 45 - 58	HPV 26 - 69 - 73
HEX	HPV 51 - 59 - 16	HPV 42 - 82 - 53
Cal Red 610	HPV 33 - 39 - 52	HPV 43 - 54 - 70
Quasar 670	IC - HPV 35 - 18	IC - HPV 61 - 6
Quasar 705	HPV 56 - 58 - 31	HPV 44 - 40 - 11

Tableau XV. Composition des mélanges réactionnels en fluorophores

IC : contrôle interne

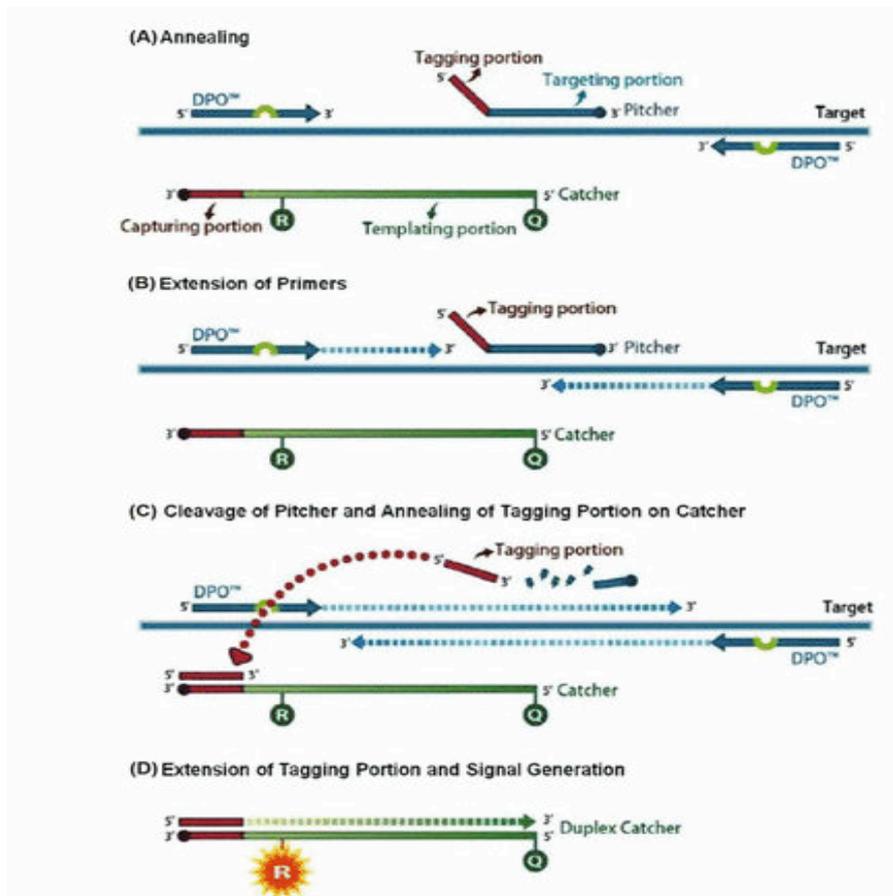


Figure 35. Principe de la technologie TOCE utilisée par le kit Anyplex HPV28 (d'après Seegene).

A. Hybridation des 2 amorces sur leur séquence cible et d'une sonde, appelée *pitcher* qui s'hybride seulement dans sa portion 3'; B. La *Taq* polymérase permet l'extension à partir des amorces et clive la portion non hybridée (*tagging portion*) du *pitcher*; C. Cette portion relarguée va s'hybrider à l'extrémité 3' d'une seconde sonde, appelée *catcher* qui porte le fluorophore rapporteur et le *quencher* Q; D. La *Taq* polymérase permet l'extension de la sonde, ce qui induit le détachement du rapporteur du *quencher* : un signal fluorescent est émis et mesuré.

➤ Détection des HPV par la trousse Anyplex II HPV28 Detection dans les échantillons

Pour la détection des 28 génotypes d'HPV avec la trousse Anyplex II, deux PCR sont donc effectuées par échantillon en utilisant 2 sets d'amplification qui permettent l'amplification de 14 HPV HR (classes 1 et 2A) (Set A) et des HPV de classe 2B et des 8 HPV BR (Set B) précédemment cités. Chaque puits PCR contient 5 µL de mélange réactionnel incluant les dNTP et la *Taq* polymérase (*PCR Master Mix*), 5 µL d'eau dépourvue de RNAses, 5 µL de réactif HPV28 A ou B auquel est rajouté 5µl de contrôle ou d'extrait d'ADN des échantillons. Trois contrôles positifs différents (HPV28 PC1, PC2 et PC3) et un contrôle négatif sont utilisés.

L'amplification a été effectuée à l'aide du thermocycleur CFX96 (BioRad). La PCR en temps réel est réalisée suivant le protocole pré-programmé HPV28 spécifique du coffret avec détection semi-quantitative permettant une détection de la fluorescence lors de l'analyse de la courbe de fusion aux cycles 30, 40 et 50 (Figure 36).

Le programme de la PCR est le suivant :

- une incubation initiale à 50°C pendant 4 minutes pour activer l'Uracile-N-Glycosylase qui permet d'éliminer les produits des PCR antérieures réalisées avec de l'UTP au lieu du TTP.
- une étape de dénaturation initiale pendant 15 minutes à 95°C qui permet de séparer les brins d'ADN, les structures secondaires et d'activer la *Taq* polymérase.
- s'en suivent 50 cycles de PCR avec :
 - une étape de dénaturation à 95°C pendant 30 secondes
 - une étape d'hybridation à 60°C pendant 1 minute
 - une étape d'élongation à 72°C pendant 30 secondes permettant à la *Taq* polymérase de synthétiser le brin complémentaire de l'ADN matrice à une température optimale. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.
- une analyse de la courbe de fusion avec détection de la fluorescence aux cycles 30, 40 et 50.

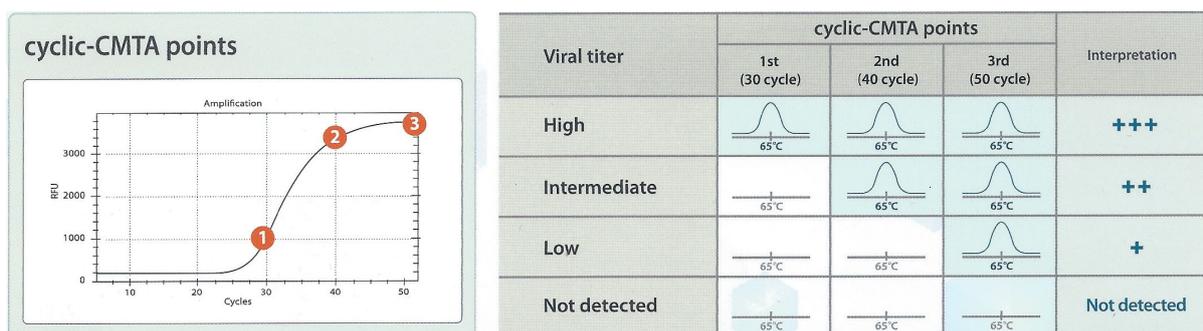


Figure 36. Principe de la technologie CMTA cyclique utilisée par le kit Anyplex HPV28 (d'après Seegene).

Une analyse de la courbe de fusion est effectuée à 3 reprises (30, 40 et 50 cycles de PCR), permettant une détection semi-quantitative des HPV détectés : titre viral élevé, intermédiaire, faible ou indétectable. *Viral titer* : titre viral ; *High* : élevé ; *Intermediate* : intermédiaire ; *Low* : faible ; *Not detected* : indétectable

Lorsque la PCR est terminée, les données brutes des 3 lectures de fluorescence sont exportées vers le logiciel d'interprétation Seegene. La validation technique de l'analyse est réalisée en fonction du résultat PCR du contrôle interne (Tableau XVI).

Résultat IC	Résultat cibles	Interprétation
+++ ou ++ ou + ou -	+++ ou ++ ou +	Cible détectée
+++ ou ++	-	Cible non détectée
+ ou -	-	Ininterprétable : mauvaise qualité du prélèvement ou présence d'inhibiteurs = Test à refaire à partir d'une nouvelle extraction

Tableau XVI. Interprétation des résultats selon le contrôle interne

4.8. Analyse statistique

Elle concerne l'étude de la réponse des femmes au questionnaire proposé et l'analyse des résultats de la recherche d'HPV au sein des trois prélèvements différents. Cette analyse statistique a été réalisée par le Dr Stéphanie Ragot (MCU-PH au Centre d'Investigation Clinique du CHU de Poitiers) à l'aide du logiciel StatView 9.3.

Les données qualitatives sont décrites par les effectifs bruts ou en pourcentages. La prévalence des HPV a été calculée sur l'échantillon total et dans les sous-groupes. La sensibilité de chacun des tests a été calculée comme le nombre de cas positifs avec le test considéré rapporté au nombre de cas détectés comme positifs par au moins l'une des trois méthodes.

Pour les statistiques comparatives, en analyse univariée, les variables qualitatives ont été comparées par un test du Khi-deux ou un test exact de Fisher en cas d'effectifs attendus inférieurs à 5. Un degré de signification $\leq 0,05$ était considéré comme statistiquement significatif.

V. Résultats

L'inclusion des patientes a eu lieu une fois le programme des réunions d'information terminé, de début avril 2015 à fin juin 2015, soit une durée totale de trois mois. Au total, 105 kits ont été mis à disposition et tous ont été distribués. Sur les 105 participantes, seules 83 ont effectué les prélèvements et rempli le questionnaire, le reste des kits n'ayant pas été rendu. Cela fait donc un taux de participation effective de 79%.

1. Questionnaire

Les informations suivantes sont donc basées sur les réponses des 83 questionnaires remis avec les prélèvements. Les tableaux des résultats sont disponibles en Annexe 4.

- Population étudiée:

La moyenne d'âge des patientes est de 43 ans (écart-type : 11 ans), la plus jeune participante ayant 26 ans et la plus âgée 64 ans. Les femmes ont donc respecté les critères d'inclusion de l'étude, calqués sur les recommandations HAS pour le dépistage du cancer du col (25 à 65 ans).

Sur l'ensemble des femmes répondant au questionnaire, 82% (68/83) ont des enfants. En moyenne, il y a 1,54 enfant par femme.

- Suivi gynécologique et contraception :

Parmi les participantes, 82% (68/83) disent être suivies régulièrement par un gynécologue : 65% d'entre-elles le voient une fois par an (44/68), alors que 31% (21/68) ne le voient que tous les 3 ans et 4% (3/68) ne le voient que de façon épisodique.

La moitié des patientes interrogées (54%, 45/83) a un moyen de contraception. Parmi les contraceptions utilisées, les principales sont la pilule (42%, 19/45) et le stérilet (42%, 19/45) ; le préservatif seul (6%, 5/83) ou les autres alternatives comme l'anneau vaginal et l'implant (2%, 2/83) restent des solutions contraceptives marginales.

Lorsque l'on demande aux patientes si elles savent quel est le but de la réalisation des FCU, 88% (73/83) d'entre elles pensent que cela sert à détecter des lésions précancéreuses, 57% (47/83) pensent que cela sert à détecter un cancer et 33% (27/83) pensent que cela sert à détecter une infection génitale.

Presque toutes les participantes (98%, 81/83) ont déjà eu un FCU. Si 49% (40/81) des patientes disent bénéficier d'un FCU tous les 3 ans, la majorité semble ne pas respecter les recommandations : 11% (9/81) en font tous les ans, 31% (25/81) en font tous les 2 ans et 9% (7/81) en font à une fréquence autre non précisée.

Concernant la date du dernier FCU, 84% (67/80) des femmes ont bénéficié d'un FCU il y a moins de 3 ans, 11% (9/80) entre 3 et 5 ans auparavant et 5% (4/80) plus de 5 ans avant l'étude. Par conséquent, 16 % avouent n'avoir pas eu de frottis dans les 3 ans, ce qui ne correspond pas à leurs réponses à la question précédente (elles étaient alors seulement 9% à annoncer qu'elles bénéficiaient d'un FCU à une fréquence autre que 1, 2 ou 3 ans). Les résultats de 93% (75/81) des derniers FCU pratiqués étaient normaux, et seulement 1% était anormal (1 CIN1). Les autres participantes (6%, 5/81) ne connaissaient pas leur résultat.

En ce qui concerne un éventuel traitement pour des lésions précancéreuses, 94% (78/83) des patientes sondées déclarent n'en avoir jamais eu, alors que 5% (4/83) en ont déjà bénéficié et 1% (1/83) ne savait pas.

Le FCU est dans la majorité des cas réalisé par des gynécologues libéraux (71%, 57/80), suivis par les médecins généralistes (19%, 15/80), les gynécologues hospitaliers (8%, 6/80) et les sages-femmes (2%, 2/80). Aucune des patientes de l'étude ne fait pratiquer ses FCU par un biologiste médical ou un anatomo-pathologiste.

Seules 18 femmes ont répondu à la question sur les raisons d'un refus de pratiquer le FCU du fait de la formulation de la question. Les premières raisons évoquées sont son côté désagréable (44%, 8/18) et la difficulté d'avoir un rendez-vous chez un spécialiste (44%, 8/18). Ensuite, le manque de temps (33%, 6/18), l'absence de suivi par un gynécologue (22%, 4/18) ou le fait que cela soit gênant (22%, 4/18) sont des motifs également fréquents. Certaines patientes (11%, 2/18) ne souhaitent pas faire réaliser leur FCU par leur généraliste. Enfin, une (6%, 1/18) évoque un manque d'information de la part de son médecin généraliste.

Parmi les femmes interrogées, toutes avaient déjà entendu parler des HPV. Une très grande majorité d'entre elles (93%, 77/83) savaient qu'HPV était responsable du cancer du col mais cela avait été dit aux réunions d'information.

- Acceptabilité, faisabilité des différents prélèvements :

Un classement par ordre de préférence à remplir après la réalisation des différents prélèvements a été proposé aux participantes. Le prélèvement urinaire a été classé en première position par 54% (41/76) des femmes, devant le Delphi-screener® (28%, 21/76) et l'écouvillonnage vaginal (26%, 20/76). Certaines patientes ont mis plusieurs réponses, expliquant un total supérieur à 100%.

Les patientes sembleraient plus enclines à déposer les auto-prélèvements une fois effectués dans un laboratoire de Biologie Médicale (57%, 46/80) plutôt que de l'envoyer par la poste (31%, 25/80) ou alors de le déposer dans un centre d'examen de santé (11%, 9/80).

En ce qui concerne la pratique des prélèvements, celui qui semble le plus simple à réaliser est le recueil d'urines : il est plébiscité en premier dans 57% des cas, devant l'écouvillonnage vaginal (24%) puis le Delphi-screener® (14%). Enfin, le FCU par un clinicien apparaît comme le plus simple à réaliser pour seulement 10% des femmes, mais il semble le moins simple à réaliser pour 71% d'entre elles.

La question portant sur le prélèvement le plus gênant semble avoir été mal comprise et les résultats sont difficilement exploitables. Il était demandé de classer les prélèvements de 1 à 4 du plus gênant au moins gênant. Certaines femmes ont classé des prélèvements *ex-aequo*, ce qui explique que la somme des pourcentages soit supérieure à 100 et il semble, après enquête, que certaines aient compris qu'il fallait les classer du moins gênant au plus gênant. D'après les réponses, les femmes ont classé en 1^{er} prélèvement le plus gênant, le recueil d'urines (45 %) suivi du FCU fait par le clinicien (34%), l'auto-prélèvement par écouvillon (14%) et l'auto-prélèvement par Delphi-screener® (13%). En seconde place du prélèvement le plus gênant, on trouve l'auto-prélèvement par écouvillon (41%), suivi de l'auto-prélèvement par Delphi-screener® (33%), du prélèvement urinaire (13%) et du FCU (11%). La 4^{ème} place correspond donc aux prélèvements les moins gênants. De façon contradictoire, c'est le FCU qui apparaît le moins gênant (53%), suivi par le recueil d'urines (22%), l'auto-prélèvement par Delphi-screener® (15%) et l'auto-prélèvement par écouvillon (8%). Quoiqu'il en soit, on peut noter que les deux auto-prélèvements semblent peu gênants comparés au prélèvement urinaire ou au FCU. La notion de gêne peut aussi être discutée : s'agit-il d'une gêne physique, technique, psychique, culturelle ? La formulation et la construction de la question seront revues pour la prochaine étude.

L'auto-prélèvement par écouvillonnage vaginal apparaît pour la majorité des femmes non douloureux (89%, 73/82), pas désagréable à peu désagréable (90%, 74/82), pas ou peu gênant (97%, 79/82) et pas ou peu difficile à réaliser (97%, 79/82). L'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal a été ressenti comme non douloureux (98%, 80/82), pas désagréable à peu désagréable (97%, 80/82), pas ou peu gênant (98%, 80/82) et pas ou peu difficile à réaliser (100%, 82/82).

Parmi les différentes propositions concernant une amélioration du dépistage du cancer du col par la mise en place de nouvelles pratiques (rappels par de nouvelles invitations pour la pratique du FCU ou proposition pour effectuer un auto-prélèvement), 60% (50/83) des femmes sondées seraient en faveur d'un auto-prélèvement par Delphi-screener®, suivi de près à 55% (46/83) par le recueil d'urines puis par l'auto-prélèvement par écouvillonnage vaginal (43%, 36/83). Les propositions portant sur des relances pour effectuer un FCU semblent moins convenir aux femmes puisque l'envoi d'une invitation à réaliser un FCU et la prise de rendez-vous dans un centre spécifique pour réaliser un FCU ne sont plébiscités que dans 18 et 19% des cas, respectivement.

2. Performances des différents prélèvements pour la détection des HPV

Un HPV (au moins) a été retrouvé chez 17 patientes différentes, ce qui donne une prévalence des infections à HPV de l'ordre de 20% dans la population étudiée. Si l'on ne considère que les HPV HR, soit les groupes 1, 2A et 2B ou seulement les groupes 1, 2A + HPV66, qui sont ceux détectés par la majorité des trousses utilisées en France, cette prévalence est respectivement de 14% et 10%.

Certaines femmes (11%, 9/83) ont une infection multiple, jusqu'à 5 HPV différents ont été détectés pour l'une des patientes de l'étude.

- Si on considère les HPV HR en incluant les groupes 1, 2A et 2B :

Dans les urines, 12 HPV HR et 14 HPV BR ont été mis en évidence au total (Tableau XVII). A partir des écouvillons vaginaux, 15 HPV HR ont été détectés dont un HPV16 non détecté dans les urines et 17 HPV BR. Enfin, 12 HPV HR et 13 HPV BR y ont été détectés à partir des prélèvements recueillis par Delphi-screener®.

En définitive, 3 HPV HR n'ont pas été détectés dans les urines dont un HPV16. Seul un HPV HR (HPV45) a été uniquement détecté dans les urines.

	Urines	Ecouvillon vaginal	Delphi-screener®
HPV HR	12	15	12
HPV16		1	1
HPV39	1	1	1
HPV45	1		
HPV53	4	4	4
HPV56	3	3	2
HPV59	1	1	1
HPV66	1	1	1
HPV68		3	1
HPV70	1	1	1
HPV BR	14	17	13
HPV11	1	2	1
HPV42	3	4	3
HPV43	1		1
HPV44	5	8	5
HPV54	2	2	2
HPV61	2	1	1

Tableau XVII. Détection des HPV chez les patientes selon les prélèvements.

Les tests HPV réalisés sur les auto-prélèvements vaginaux par écouvillon permettent de détecter à la fois plus d'HPV HR (15 contre 12 pour chacune des 2 autres techniques d'auto-prélèvement) et d'HPV BR (17 contre 14 et 13 respectivement pour les tests effectués sur l'urine et sur le liquide de lavage cervico-vaginal). La sensibilité a été calculée pour chacun des tests sur les 3 techniques de prélèvement en partant du principe que dès qu'un génotype était détecté sur l'un des 3 prélèvements, il était présent et aurait dû être détecté sur l'ensemble des prélèvements : elle est de 71% dans l'urine ou dans le liquide de lavage cervico-vaginal, et de 88% dans l'écouvillonnage vaginal (Tableau XVIII).

Prélèvement	Nombre d' HPV HR isolés	Sensibilité
Urines	12	71%
Écouvillon vaginal	15	88%
Delphi-screener®	12	71%
Total	17	

Tableau XVIII. Sensibilité de la recherche des HPV HR dans les différents prélèvements.

La sensibilité des tests HPV effectués sur les prélèvements urinaires et cervico-vaginaux est identique pour détecter des HPV HR (71%). Elle est meilleure pour les prélèvements vaginaux réalisés à l'aide d'un écouvillon (88%). Cependant, un seul HPV16 a été détecté chez une patiente mais il a été mis en évidence dans seulement 2 prélèvements (écouvillon vaginal et Delphi-screener®).

Prélèvement	Nombre d' HPV BR isolés	Sensibilité
Urines	14	74%
Écouvillon vaginal	16	88%
Delphi-screener®	13	68%
Total	19	

Tableau XIX. Sensibilité de la recherche des HPV BR dans les différents prélèvements.

De même, la sensibilité pour détecter les HPV BR est supérieure pour les tests HPV réalisés sur le prélèvement par écouvillonnage vaginal (89%, contre 74% sur l'urine et 68% sur le liquide de lavage cervico-vaginal).

- Maintenant, si l'on inclut dans les HPV HR, uniquement les 14 HPV regroupant les groupes 1 et 2A et HPV66 (seul HPV de groupe 2B généralement détecté par la plupart des trousses commercialisées) :

Prélèvement	Nombre d' HPV HR isolés	Sensibilité
Urines	7	64%
Écouvillon vaginal	10	91%
Delphi-screener®	7	64%
Total	11	

Tableau XX. Sensibilité de la recherche des HPV HR dans les différents prélèvements.

La plupart des kits commercialisés ne détectent au maximum que les 14 génotypes des classes 1, 2A plus l'HPV66. Les résultats dans ces conditions montrent que la sensibilité des tests réalisés à partir du prélèvement par écouvillonnage vaginal est augmentée et très supérieure aux deux autres prélèvements (91% contre 64%).

3. Résultats des FCU

Nous avons seulement récupéré 4 résultats de FCU. Parmi eux, 3 étaient normaux malgré la présence chez chacune des 3 patientes d'au moins un HPV HR 2A ou 2B, avec respectivement HPV68,

HPV59/66/53 et HPV70/54/44. Pour la 4^{ème} patiente, dont les trois prélèvements de l'étude retrouvaient un HPV 53, la cytologie sur FCU était de nature LSIL, nécessitant la réalisation d'une colposcopie qui s'est révélée négative. Cette patiente aurait eu un résultat négatif avec les trousse de détection les plus couramment utilisées.

4. Statistique comparative univariée

Le fait d'être suivie par un gynécologue, d'avoir des enfants ou d'être sous contraception (quelle qu'elle soit) ne changeait pas la proportion de femmes HPV+ (Tableau XXI). La date du dernier FCU, la fréquence habituelle de réalisation des FCU ou encore la réalisation du FCU par un gynécologue ou un autre préleveur ne changeaient pas non plus la proportion de femmes HPV+.

Par contre, on peut noter des disparités de prévalence de l'infection selon l'âge des patientes. Ainsi, les femmes de la tranche d'âge 30-40 ans avaient moins fréquemment une infection à HPV ($p=0,0081$). Celles âgées de moins de 30 ans tendent à l'opposé à avoir des infections plus fréquentes ($p=0,051$).

	HPV +	HPV -	P
Suivi par un gynécologue			
Oui	13/17 (76%)	55/66 (83%)	NS (0,496)
Non	4/17 (24%)	11/66 (17%)	
Age de la patiente			
< 30 ans	4/17 (24%)	4/66 (6%)	NS (0,051)
30 – 40 ans	1/17 (6%)	27/66 (41%)	<0,05 (0,0081)
41 – 55 ans	7/17 (41%)	23/66 (35%)	NS (0,383)
> 55 ans	5/17 (29%)	12/66 (18%)	NS (0,159)
Enfants			
Oui	13/17 (76%)	55/66 (83%)	NS (0,496)
Non	4/17 (24%)	11/66 (17%)	
Contraception			
Oui	6/17 (35%)	39/66 (59%)	NS (0,079)
Non	11/17 (65%)	27/66 (41%)	
Pilule	5/17 (29%)	14/66 (21%)	NS (0,310)
Préservatif	0/17 (0%)	5/66 (8%)	NS (0,578)
Stérilet	1/17 (6%)	18/66 (27%)	NS (0,102)
Autre	0/17 (0%)	2/66 (3%)	NS (1)
Non	11/17 (65%)	27/66 (41%)	
Date du dernier FCU			
< 3 ans	14/16 (88%)	53/64 (83%)	NS (1)
de 3 à 5 ans	1/16 (6%)	8/64 (12%)	NS (0,679)
> 5 ans	1/16 (6%)	3/64 (5%)	NS (1)
Fréquence habituelle des FCU			
Tous les ans	3/15 (20%)	6/59 (10%)	NS (0,375)
Tous les 2 ans	4/15 (27%)	21/59 (36%)	NS (0,761)
Tous les 3 ans	8/15 (53%)	32/59 (54%)	NS (1)
Réalisation d'un FCU par un gynécologue			
Oui	11/16 (69%)	52/64 (81%)	NS (0,318)
Non	5/16 (31%)	12/64 (19%)	

Tableau XXI. Proportion de femmes HPV+ selon différents facteurs.

La réalisation des FCU par un gynécologue (libéraux + hospitaliers) est associée à un non-respect des recommandations (Tableau XXII). Inversement, la réalisation des FCU par les médecins généralistes est associée à un respect des recommandations. Ces résultats suggèrent que les généralistes conseilleraient mieux leurs patientes.

	FCU tous les 3 ans	Non respect des recommandations	P
FCU par un gynécologue			
Oui	27/40 (67%)	36/40 (90%)	<0,05 (0,0193)
Non	13/40 (33%)	4/40 (10%)	
FCU par un médecin généraliste			
Oui	11/40 (27%)	4/40 (10%)	<0,05 (0,0449)
Non	29/40 (73%)	36/40 (90%)	

Tableau XXII. Pratique des FCU et respect des recommandations selon les préleveurs.

VI. Discussion

Presque toutes les femmes participant à l'étude (98%) avaient déjà bénéficié d'un FCU et 84% d'entre elles ont déclaré en faire au moins un tous les 3 ans. Ces chiffres sont nettement supérieurs à ceux rapportés par la HAS en 2010 où seulement 56,7 % des femmes de 25 à 65 ans adhéraient au dépistage par FCU. Ces données nationales sont proches de celles retrouvés en Poitou-Charentes entre 2006 et 2008 où les taux de couverture étaient de 56,1% en Charente, 57,5% en Charente-Maritime, 58,4% dans la Vienne et 60,6% dans les Deux-Sèvres, avec une couverture régionale globale de 58,1%. La proportion de femmes suivant correctement les recommandations était élevé (49%) par rapport aux 8% rapportés par la HAS dans la population nationale alors que seulement 2% ne faisaient pas régulièrement de frottis contre 52% dans la population nationale. Ces discordances peuvent s'expliquer par le biais recrutement de la population pour l'étude SELFIPUR. Par contre, concernant la proportion de femmes dont la fréquence de réalisation des frottis est supérieure aux recommandations, nos résultats sont en accord avec les données de la HAS. En effet, 11% des femmes interrogées ont déclaré avoir un FCU tous les ans et 31% tous les 2 ans, soit un total de 42% qui ont un FCU trop fréquemment versus 40% des femmes au niveau national.

Une grande majorité des femmes fait pratiquer leur FCU par des gynécologues libéraux (71%) et des médecins généralistes (18%) : ce geste semble donc surtout l'apanage de la médecine de ville. La part due aux généralistes semble importante dans la population étudiée, car d'autres études (Lustman *et al*, 2009 ; Dupont *et al*, 2005) montraient qu'en France 90% des FCU sont réalisés par un gynécologue. Cela pourrait être lié à une évolution des pratiques des médecins de ville depuis quelques années, avec une formation initiale bien meilleure ainsi qu'avec la mise en place de FMC et de *e-learning* sur la gynécologie. De même, il faut noter les 2% de FCU réalisés par les sages-femmes, autorisées à pratiquer ce geste depuis l'élargissement des pratiques en 2009. Enfin, aucune femme interrogée n'a l'habitude de faire réaliser ses FCU dans un laboratoire de ville, alors que c'est un prélèvement qui n'est pas rare en pratique de biologie libérale. Au cours de l'étude, il est apparu que la fréquence des FCU réalisés par les médecins généralistes était plus en accord avec les recommandations de la HAS que lorsque les FCU sont réalisés par les gynécologues, suggérant que ces derniers conseillent de raccourcir l'intervalle entre chaque FCU. Ces données sont encore une fois à comparer à celles de la HAS, pouvant expliquer le dépistage trop fréquent d'une partie de la population.

Il n'y avait aucune association entre dépistage moins fréquent et détection d'un HPV dans les prélèvements. De même, la parité, le fait d'être sous contraception (orale, par stérilet ou autre) ou non, ou le suivi par un gynécologue ne sont pas apparus dans notre étude comme des facteurs

associés à la détection d'HPV. La petite taille du groupe de femmes ayant une infection peut expliquer ces résultats parfois discordants avec la littérature. La moyenne d'âge des participantes était de 43 (\pm 11) ans, et les âges variaient de 26 et 64 ans. Les femmes de la tranche d'âge 30-40 ans avaient significativement moins d'infection à HPV, et celles âgées de moins de 30 ans tendent à l'opposé vers la détection plus fréquente d'infections. La moindre détection des infections entre 30 et 40 ans n'est pas en accord avec la littérature. En effet, la prévalence des infections à HPV est fortement liée à l'âge, avec un pic au début de l'activité sexuelle aux environs de 20-25 ans avec ensuite une diminution progressive au cours de la vie (Bosch *et al*, 2013).

Certains résultats discordants avec la littérature reflètent donc vraisemblablement le biais de recrutement de la population. En effet, la majorité des femmes incluses travaillait dans un laboratoire de Biologie Médicale au CHU de Poitiers et possédait probablement davantage de connaissances sur le sujet que la population générale. Cela se remarque notamment sur la forte proportion de femmes qui préféreraient déposer les prélèvements dans un laboratoire de Biologie Médicale, mais aussi par exemple dans les questions sur le cancer du col et HPV, où une très grande majorité possède quelques bases théoriques (toutes les patientes avaient déjà entendu parler d'HPV et 93% d'entre elles savaient qu'HPV était responsable du cancer du col ; 88% des patientes pensaient que le FCU servait à détecter des lésions précancéreuses et 57% pensaient qu'il servait à détecter un cancer). Malgré tout, ces résultats sont à nuancer car la majorité des participantes s'était rendue à l'une des réunions d'information préalables à l'étude, au cours desquelles une brève présentation d'HPV, du cancer du col et de sa prévention a été faite. On peut s'étonner que seulement 57% des femmes pensent que le FCU sert à dépister un cancer du col de l'utérus alors que cela a été dit lors des réunions et dans la fiche d'information délivrée avec le matériel de prélèvement. Ces questions gardent cependant toute leur utilité pour une étude réalisée dans d'autres populations.

L'un des objectifs de l'étude pilote SELFIPUR était également la validation ou non du questionnaire proposé aux patientes, afin de l'utiliser lors d'une étude ultérieure. Ce court questionnaire semble être facile à comprendre et est validé pour une majorité de questions. L'extraction des résultats et son encodage à des fins statistiques sont également aisés. Sur la forme, il faudra veiller à borner au maximum les questions et à laisser le moins possible place à des interprétations erronées ou à la possibilité de réponses incomplètes. Par exemple, lorsque l'on demande de classer les trois prélèvements de 1 à 3, beaucoup ne cochent qu'une case au lieu de numéroter de 1 à 3. Pour cela il faudra par exemple écrire tous les numéros après chaque proposition afin que les femmes n'aient qu'à rayer les mentions inutiles. De plus, plusieurs questions sont à modifier ou à reformuler afin de permettre à la fois une meilleure compréhension par les patientes mais aussi d'obtenir davantage de réponses exploitables de leur part. Tout d'abord, nous avons rétrospectivement constaté qu'il

manquait une question sur les antécédents de FCU anormal : le questionnaire se limite uniquement au dernier FCU. Ensuite, la question portant sur les raisons de la difficulté du dépistage par FCU est à revoir et il ne faudra pas la limiter aux femmes qui ne bénéficient pas du dépistage du cancer du col lors de la prochaine étude : cela permettra de connaître le ressenti concernant les freins au dépistage dans la population entière. De même, la question portant sur le « côté gênant » des différents prélèvements proposés est à reformuler car elle est source de confusion par la compréhension du terme et également du sens du classement demandé (on aurait demandé « lequel est le PLUS gênant », comme on a dit « lequel est le plus facile » à la question précédente). Les résultats obtenus tendent à la critique et semblent contradictoires car les prélèvements qui apparaissent en première position pour être les plus gênants sont aussi ceux qu'on retrouve en dernière position, à savoir ceux étant ressentis comme les moins gênants. De très rares études ont comparé le ressenti vis-à-vis de différents types d'auto-prélèvements et de recueil d'urines chez les mêmes femmes. Une étude de Sellors *et al* (2000), réalisée aux Etats-Unis chez 200 femmes consultant pour colposcopie, a montré que 98,4% des femmes trouvaient le prélèvement urinaire acceptable contre 88,2% pour l'auto-prélèvement par écouvillonnage vaginal. Enfin, il sera plus approprié de proposer un classement des alternatives (toujours en rayant la mention inutile) au FCU dans le cadre d'un DO dans la dernière question plutôt que de demander aux patientes si elles seraient d'accord pour suivre telle ou telle proposition : cela aurait potentiellement permis de faire ressortir davantage un prélèvement par rapport aux autres.

Dans notre étude, la prévalence des femmes présentant au moins un HPV parmi les 28 détectés par le kit *Anyplex II HPV28 Detection* est de l'ordre de 20% (17/84). Si l'on ne cherche que les HPV HR (groupes 1, 2A et 2B ou seulement les groupes 1, 2A + HPV66), cette prévalence diminue respectivement à 14% et 10%. Ces chiffres sont à comparer à d'autres études montrant une prévalence moyenne dans le monde aux alentours de 12 % et en Europe de l'Ouest autour de 9% (Bruni *et al*, 2010 ; Forman *et al*, 2012), mais variable selon l'âge et la géographie. De même, ces chiffres sont légèrement supérieurs à la prévalence de 7,3 % rapportée par une étude réalisée chez des femmes consultant au Centre d'Examen de Santé de la Sécurité Sociale de la Vienne en 2004 (Bebby-Defaux *et al*, 2004). Les HPV les plus fréquemment mis en évidence dans cette étude étaient les HPV16, 58, 18, 30 et 33 alors que ceux les plus mis en évidence dans notre étude sont les HPV44, 42, 56 et 52. De même, le taux d'infections multiples était de 0,9% dans l'étude de 2004 alors qu'il est de 10,8% dans notre étude. Il faut noter que la technique utilisée alors (PCR en point final suivie de séquençage) ne permettait pas de détecter toutes les infections multiples. Les autres études rapportent un taux habituel d'infections multiples tournant autour de 25%. Parmi les participantes ayant une infection par un HPV HR, seulement 4 ont transmis leur résultat de FCU de contrôle. On ne sait pas si les autres n'ont pas fait de FCU ou l'ont fait mais n'ont pas transmis leur résultat. Un seul

FCU sur les 3 s'est révélé anormal (grade LSIL) mais une colposcopie réalisée par la suite n'a pas montré d'anomalie. Ainsi, aucune lésion CIN2+ n'a été mise en évidence au cours de l'étude.

L'auto-prélèvement le plus sensible pour détecter une infection par HPV dans notre étude est donc l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage. Il permet à la fois de détecter plus d'HPV HR et d'HPV BR que les autres prélèvements et sa sensibilité est de 88% à 91% pour détecter respectivement les HPV de classe 1, 2A et 2B ou les HPV de classe 1, 2A + HPV66. Qu'il soient secs ou mis dans un milieu de transport (comme c'est le cas dans notre étude), les prélèvements par écouvillonnage présentent des performances très proches pour détecter des infections cervicales (Haguenoer *et al*, 2014 ; Eperon *et al*, 2013). Leurs performances, selon les études, sont identiques (Snijders *et al*, 2013 ; Lazcano-Ponce *et al*, 2011) ou légèrement inférieures à celle obtenues sur un prélèvement effectué par un clinicien (Arbyn *et al*, 2014).

L'auto-prélèvement cervico-vaginal (Delphi-screener®) présente dans notre étude des sensibilités inférieures à celles obtenues avec l'auto-prélèvement vaginal : elle varie de 64% si l'on ne prend en compte que les HPV de classe 1, 2A et HPV66 à 71% si l'on englobe les HPV de classe 1, 2A et 2B. D'après l'étude de Brink *et al* (2006), sa sensibilité est supérieure à la cytologie pour détecter les lésions CIN2+. L'étude START-HPV (Dalstein *et al*, BEH 2014), dont les résultats devraient être prochainement publiés, doit montrer si l'utilisation en dépistage organisé permettrait à ce dispositif d'apporter un gain en couverture de dépistage pour le cancer du col en France. Une étude réalisée en Norvège avec ce dispositif a montré un gain de 10% de couverture (Enerly *et al*, 2016). Au cours de notre étude, le Delphi-screener® a été largement plébiscité par les patientes. L'auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal semble bien accepté par les femmes, confirmant l'étude de Castell *et al* réalisée en Allemagne (2014), mais son utilisation plus complexe, et notamment le faible volume de liquide recueilli à cause de l'effet ventouse, pourrait expliquer la moins grande sensibilité de détection au cours de notre étude. De plus, son coût élevé est un frein à son utilisation.

Le prélèvement urinaire, préféré aux autres prélèvements proposés dans notre étude sur le plan de la facilité de réalisation, présente dans notre étude des sensibilités de 71% et 74% pour détecter respectivement les HPV de classe 1, 2A et 2B ou les HPV de classe 1, 2A + HPV66, inférieures à celles de l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage. Il a été réalisé sur premier jet d'urine comme le recommandaient différentes études (Pathak *et al*, 2014 ; Senkomago *et al*, 2015). Un seul HPV16 a été détecté dans la population examinée, et retrouvé seulement à partir du Delphi-screener® et de l'écouvillonnage vaginal. L'absence de détection dans l'urine de la patiente de ce génotype le plus oncogène, très persistant au niveau cervical et responsable de plus de 50% des cancers du col, est un argument en défaveur de l'utilisation du prélèvement urinaire pour le dépistage d'HPV. L'étude de Ducancelle *et al* (2015) montrait qu'il pouvait y avoir de rares discordances entre les kits de détection utilisés pour détecter les HPV sur le prélèvement urinaire, mais pour des HPV HR différents des HPV16

et 18. La détection des HPV16 et 18 dans l'urine serait moins fréquente que dans les autres prélèvements, les sensibilités rapportées vont de 56% à 86% (Pathak *et al*, 2014) pouvant expliquer le fait que l'HPV16 n'ait pas été retrouvé dans ce cas. De même, le prélèvement n'a peut être pas été réalisé dans les conditions recommandées (1^{er} jet d'urine après au moins 2 heures de stase urinaire). Enfin, les HPV retrouvés au niveau urinaire ne sont pas toujours les mêmes que ceux retrouvés au niveau cervical, du fait de la possible infection de la vulve ou de l'urètre.

Concernant la pratique des deux auto-prélèvements proposés dans l'étude, l'écouvillonnage vaginal tout comme le lavage cervico-vaginal semblent majoritairement bien acceptés au vu des réponses au questionnaire : les deux ne sont pas douloureux, pas ou peu désagréables, pas gênants et pas difficiles à réaliser pour la majorité des patientes. Tous ces résultats sont en accord avec différentes études effectuées dans différents pays qui montrent que les femmes acceptent et préfèrent généralement l'auto-prélèvement au prélèvement réalisé par le clinicien (Igidbashian *et al*, 2011 ; Bosgraaf *et al*, 2014 ; Virtanen *et al*, 2014 ; Jones *et al*, 2012 ; Castell *et al*, 2014). De plus, l'étude de Mullins *et al* (2014) réalisée en Australie montre que les femmes qui n'ont jamais ou pas bénéficié de FCU depuis plus de 3 ans ont tendance à préférer l'auto-prélèvement, et l'étude de Chou *et al* (2015) réalisée à Taiwan montre que les femmes n'ayant pas réalisé de FCU depuis plus de 5 ans le trouvent acceptable à 90,8%. La commodité et le moindre embarras sont des avantages non négligeables. Ainsi, la possibilité pour les femmes non répondeuses au dépistage actuel de réaliser un auto-prélèvement vaginal ou un recueil urinaire semble une voie d'avenir à condition d'utiliser des techniques sensibles de détection d'HPV type PCR en temps réel (Snijders *et al*, 2012).

Dans notre étude, parmi les différentes approches pour une amélioration du dépistage du cancer du col par de nouvelles pratiques, la plupart des femmes seraient enclines à réaliser l'un des trois prélèvements proposés dans l'étude (dans l'ordre : Delphi-screener® puis urines puis écouvillonnage vaginal) plutôt que de recevoir des incitations ou des relances pour effectuer un FCU. Des résultats similaires avaient été trouvés par une étude réalisée en France dans les Bouches-du-Rhône comparant une relance par la réalisation d'un auto-prélèvement vaginal ou par l'invitation à la réalisation d'un FCU (Piana *et al*, 2011). Ces affirmations sont cependant à discuter en pratique. En effet, sur les 105 kits complets distribués dans le CHU de Poitiers, seulement 83 ont été rendus pour être analysés : un grand nombre de kits a donc disparu sans explication particulière. Cela permet de poser plusieurs questions : les patientes n'ont-elles finalement plus eu envie de réaliser les prélèvements ? Ont-elles eu des difficultés à effectuer un des prélèvements ? Ont-elles pris peur ou eu une mauvaise expérience avec un prélèvement ? Ont-elles eu peur du résultat ? Toutes ces questions n'ont malheureusement pas de réponse, même si les différentes publications montrent que l'auto-prélèvement vaginal et le prélèvement urinaire sont généralement bien tolérés.

Les trois prélèvements proposés au cours de notre étude peuvent être des alternatives tout à fait intéressantes pour augmenter l'efficacité d'un programme de dépistage, particulièrement en ciblant les femmes non répondeuses à la pratique du FCU. Actuellement considérées comme des outils additionnels, ces différents prélèvements sont l'objet d'études comme le stipule le Plan Cancer 2014-2019. Ils pourraient, dans un avenir proche, être mis en place dans le cadre d'un programme de DO en France (il sera par exemple effectif en 2018 dans la Vienne). Le prélèvement d'urines n'a pas cependant fait la preuve d'un apport conséquent par rapport à l'auto-prélèvement. Dans les 2 études publiées qui ont comparé les performances de l'auto-prélèvement, du prélèvement d'urines et du prélèvement fait par un clinicien chez les mêmes femmes, la sensibilité pour détecter une CIN2+ étaient inférieures pour le prélèvement d'urines (Sellors *et al*, 2000 ; Stanczuk *et al*, 2015). Cependant, un gain en couverture significativement supérieur à celui des auto-prélèvements vaginaux pourrait compenser ces performances moindres en permettant de dépister davantage de femmes de milieu social défavorisé, privées d'accès à des gynécologues (notamment en zone rurale) ou refusant les FCU invasifs (Pathak *et al*, 2014). L'étude réalisée dans le Maine-et-Loire (Ducancelle *et al*, 2015) montre un gain de 13,7% par rapport à la relance par FCU, ce qui est inférieur au le gain de couverture (19,4 %) rapporté dans une autre étude française utilisant l'écouvillonnage vaginal mais réalisée dans les Bouches-du-Rhône (Piana *et al*, 2011). Les autres études publiées ont toujours comparé le gain de couverture obtenu pour un type d'auto-prélèvement donné (auto-prélèvement vaginal ou urines) versus celui obtenu par une ou 2 relances pour FCU. Ces gains en couverture sont difficilement comparables entre les différentes études du fait de l'inclusion de populations différentes. D'autres études restent à faire.

Enfin, l'amélioration du dépistage du cancer du col passe par une amélioration des pratiques de la part de tous les professionnels de santé et la responsabilisation des patientes. La mise en place d'un DO (associé à l'utilisation d'auto-prélèvement ou à des convocations pour inciter à réaliser un FCU), la mobilisation des médecins spécialistes et généralistes ainsi que la motivation des femmes à se faire dépister en sont un versant important. Mais même si la couverture de dépistage par FCU augmente, il n'est pas garanti que le nombre de femmes atteintes d'un cancer du col diminue : au Royaume-Uni, la couverture de dépistage réalisé par FCU est de l'ordre de 80% et pourtant le taux d'incidence des cancers du col est identique à celui de la France (6,8 versus 6,7 pour 100 000 femmes) (Forman *et al*, 2008). On arrive ainsi aux limites des performances du dépistage par cytologie. La généralisation de la mise en place d'un dépistage par détection des HPV HR sur FCU et sur auto-prélèvements pourrait contribuer à changer la donne.

VII. Conclusion

L'étude pilote SELFIPUR a permis de confirmer que les techniques alternatives de dépistage du cancer du col par auto-prélèvement vaginal ou prélèvement urinaire étaient généralement bien acceptées par les patientes. L'urine est très plébiscitée, mais les deux autres techniques ont également été accueillies sans difficulté, confirmant les études déjà publiées. Ces prélèvements seraient préférés à une relance pour effectuer un FCU en cas de mise en place d'un dépistage organisé du cancer du col.

Le questionnaire utilisé lors de l'étude devra être l'objet de modifications avant la mise en place de la prochaine étude.

La sensibilité du test *Anyplex II HPV28 Detection* (Seegene) semble être meilleure sur l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage pour la détection des HPV HR, que l'on recherche tous les HPV HR ou seulement les HPV de classe 1, 2A et 2B ou HPV66. Le prélèvement urinaire et le liquide de lavage cervico-vaginal apparaissent moins sensibles pour la détection des HPV HR par la même technique PCR. D'autres études comparant ces différents prélèvements à plus grande échelle seraient intéressantes afin d'obtenir des résultats plus significatifs.

VIII. Bibliographie

Abulafia O, Pezzullo JC, Sherer DM. Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey. *Gynecologic Oncology*. 2003 Jul;90(1):137–44.

Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T, Koliopoulos G, Daponte A, Constantinidis T, et al. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV 16 and HPV 18 genotyping, in comparison to cytology. *PLoS ONE*. 2015;10(3):e0119755.

Anttila A, Ronco G, Clifford G, Bray F, Hakama M, Arbyn M, Weiderpass E. Cervical cancer screening programmes and policies in 18 European countries. *Br J Cancer*. 2004 Aug 31;91(5):935–41.

Apple RJ, Erlich HA, Klitz W, Manos MM, Becker TM, Wheeler CM. HLA DR–DQ associations with cervical carcinoma show papillomavirus–type specificity. *Nature Genetics*. 1994 Feb;6(2):157–62.

Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener H, Herbert A, von Karsa L. European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening. Second Edition—Summary Document. *Ann Oncol*. 2010 Mar;21(3):448–58.

Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2008 Jan;111(1):167–77.

Arbyn M, Verdoodt F, Snijders PJF, Verhoef VMJ, Suonio E, Dillner L, Minozzi S, Bellisario C, Banzi R, Zhao F-H, Hillemanns P, Anttila A. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. *The Lancet Oncology*. 2014 Feb;15(2):172–83.

Ashrafi GH, Haghshenas M, Marchetti B, Campo MS. E5 protein of human papillomavirus 16 downregulates HLA class I and interacts with the heavy chain via its first hydrophobic domain. *Int J Cancer*. 2006 Nov 1;119(9):2105–12.

Bais AG, van Kemenade FJ, Berkhof J, Verheijen RHM, Snijders PJF, Voorhorst F, Babović M, van Ballegooijen M, Helmerhorst TJM, Meijer CJLM. Human papillomavirus testing on self-sampled cervicovaginal brushes: An effective alternative to protect nonresponders in cervical screening programs. *Int J Cancer*. 2007 Apr 1;120(7):1505–10.

Beby-Defaux A, Bourgoin A, Ragot S, Battandier D, Lemasson JM, Renaud O, Bouguermouh S, Agius G. Human papillomavirus infection of the cervix uteri in women attending a Health Examination Center of the French social security. *J Med Virol*. 2004 Jun;73(2):262–8.

Beby-Defaux A, Dufour X, Agius G. Infections à papillomavirus humains (HPV) des voies aéro-digestives supérieures (VADS). *Revue Francophone des Laboratoires*. 2011 Jul;2011(434):65–75.

Bernal S, Palomares JC, Artura A, Parra M, Cabezas JL, Robles A, Martin Mazuelos E. Comparison of urine and cervical samples for detecting human papillomavirus (HPV) with the Cobas 4800 HPV test. *J Clin Virol*. 2014 Dec;61(4):548–52.

Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki A-B, Gillison ML, Doorbar J, Stern PL, Stanley M, Arbyn M, Poljak M, Cuzick J, Castle PE, Schiller JT, Markowitz LE, Fisher WA, Canfell K, Denny LA, Franco EL, Steben M, Kane MA, Schiffman M, Meijer CJLM, Sankaranarayanan R, Castellsagué X, Kim JJ, Brotans M, Alemany L, Albero G, Diaz M, de Sanjosé S, authors of ICO Monograph. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine*. 2013 Dec 31;31 Suppl 7:H1-31.

Bosch FX, de Sanjose S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers*. 2007;23(4):213–27.

Bosgraaf RP, Verhoef VMJ, Massuger LFAG, Siebers AG, Bulten J, de Kuyper-de Ridder GM, Meijer CJM, Snijders PJM, Heidemen DAM, IntJaout J, van Kemenade F, Melchers WJG, Bekkers RLM. Comparative performance of novel self-sampling methods in detecting high-risk human papillomavirus in 30,130 women not attending cervical screening. *Int J Cancer*. 2015 Feb 1;136(3):646–55.

Brink AATP, Meijer CJLM, Wiegerinck MAHM, Nieboer TE, Kruitwagen RFP, van Kemenade F, Fransen Daalmeijer N, Hesselink AT, Berkhof J, Snijders PJF. High Concordance of Results of Testing for Human Papillomavirus in Cervicovaginal Samples Collected by Two Methods, with Comparison of a Novel Self-Sampling Device to a Conventional Endocervical Brush. *J Clin Microbiol.* 2006 Jul;44(7):2518–23.

Broquet C, Tribouillier D, Untiet S, Schafer S, Petignat P, Vassilakos P. Acceptability of self-collected vaginal samples for HPV testing in an urban and rural population of Madagascar. *Afr Health Sci.* 2015 Sep;15(3):755–61.

Bruni L, Diaz M, Castellsagué M, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose S. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. *J Infect Dis.* 2010 Dec 15;202(12):1789–99.

Camilloni L, Ferroni E, Cendales BJ, Pezzarossi A, Furnari G, Borgia P, Guasticchi G, Giorgio Rossi P. Methods to increase participation in organised screening programs: a systematic review. *BMC Public Health.* 2013;13:464.

Cartier I. Frottis conventionnel versus frottis en milieu liquide: les deux techniques ont des performances équivalents: Une revue de la littérature valide les résultats d'une étude de la Société Française de Cytologie et les recommandations de l'ANAES (Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé). *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* 2006 Jun;35(4):321–3.

Castell S, Krause G, Schmitt M, Pawlita M, Deleré Y, Obi N, Flesch-Janys D, Kemmling Y, Kaufmann AM. Feasibility and acceptance of cervicovaginal self-sampling within the German National Cohort (Pretest 2). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2014 Nov;57(11):1270–6.

Castle PE, Sideri M, Jeronimo J, Solomon D, Schiffman M. Risk assessment to guide the prevention of cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol.* 2007 Oct;197(4):356.e1-356.e6.

Cattani P, Zannoni GF, Ricci C, D'Onghia S, Trivellizzi IN, Di Franco A, Vellone VG, Durante M, Fadda G, Scambia G, Capelli G, De Vincenzo R. Clinical Performance of Human Papillomavirus E6 and E7 mRNA Testing for High-Grade Lesions of the Cervix. *J Clin Microbiol.* 2009 Dec;47(12):3895–901.

Chou H-H, Huang H-J, Cheng H-H, Chang C-J, Yang L-Y, Huang C-C, et al. Self-sampling HPV test in women not undergoing Pap smear for more than 5 years and factors associated with under-screening in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2015 Dec 23;

Clavel C, Dalstein V, Birembaut P. Stratégies de dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus : cytologie ou test HPV ? *Revue Francophone des Laboratoires.* 2008 Oct;2008(405):57–65.

Cook LS, Koutsky LA, Holmes KK. Clinical presentation of genital warts among circumcised and uncircumcised heterosexual men attending an urban STD clinic. *Genitourin Med.* 1993 Aug;69(4):262–4.

Cox JT, Castle PE, Behrens CM, Sharma A, Wright Jr TC, Cuzick J. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2013 Mar;208(3):184.e1-184.e11.

Cox JT. Liquid-Based Cytology: Evaluation of Effectiveness, Cost-Effectiveness, and Application to Present Practice. *J Natl Compr Canc Netw.* 2004 Jan 11;2(6):597–611.

Cubie HA. Diseases associated with human papillomavirus infection. *Virology.* 2013 Oct;445(1–2):21–34.

Cui M, Chan N, Liu M, Thai K, Malaczynska J, Singh I, Zhang D, Ye F. Clinical Performance of Roche Cobas 4800 HPV Test. *J Clin Microbiol.* 2014 Jan 6;52(6):2210–1.

Cuzick J, Clavel C, Petry K-U, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006 Sep 1;119(5):1095–101.

Cuzick J, Cuschieri K, Denton K, Hopkins M, Thorat MA, Wright C, Cubie H, Moore C, Kleeman M, Austin J, Ashdown-Barr L, Hunt K, Cadman L. Performance of the Xpert HPV assay in women attending for cervical screening. *Papillomavirus Research.* 2015 Dec;1:32–7.

de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, Plummer M. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology.* 2012 Jun;13(6):607–15.

Denis F, Hanz S, Alain S. Clearance, persistence and recurrence of HPV infection. *Gynecol Obstet Fertil*. 2008 Apr;36(4):430–40.

de Sanjose S, Wheeler CM, Quint WGV, Hunt WC, Joste NE, Alemany L, Bosch FX, Myers ER, Castle PE. Age-Specific Occurrence of HPV16- and HPV18-Related Cervical Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013 Jan 7;22(7):1313–8.

de Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004 Jun 20;324(1):17–27.

Discacciati MG, de Souza CAS, d’Otaviano MG, Ângelo-Andrade LAL, Westin MCA, Rabelo-Santos SH, Zeferino LC. Outcome of expectant management of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 in women followed for 12 months. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2011 Apr;155(2):204–8.

Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30, Supplement 5:F55–70.

Ducancelle A, Reiser J, Pivert A, Le Guillou-Guillemette H, Le Duc-Banaszuk AS, Lunel-Fabiani F. Home-based urinary HPV DNA testing in women who do not attend cervical cancer screening clinics. *J Infect*. 2015 Sep;71(3):377–84.

Duport N, Bloch J. Les pratiques de dépistage des cancers : dépistage du cancer du col de l’utérus. *Le Baromètre Cancer 2005, INPES 2006*, 128-36

Enerly E, Bonde J, Schee K, Pedersen H, Lönnberg S, Nygård M. Self-Sampling for Human Papillomavirus Testing among Non-Attenders Increases Attendance to the Norwegian Cervical Cancer Screening Programme. *PLOS ONE*. 2016 Apr 13;11(4):e0151978.

Eperon I, Vassilakos P, Navarra I, Menoud P-A, Gauthier A, Pache J-C, Boulvain M, Untiet S, Petignat P. Randomized comparison of vaginal self-sampling by standard vs. dry swabs for Human papillomavirus testing. *BMC Cancer*. 2013;13:353.

Estrade C, Sahli R. Comparison of Seegene Anyplex II HPV28 with the PGMY-CHUV Assay for Human Papillomavirus Genotyping. *J Clin Microbiol*. 2014 Feb;52(2):607–12.

Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30, Supplement 5:F12–23.

Giorgi Rossi P, Marsili LM, Camilloni L, Iossa A, Lattanzi A, Sani C, Di Pierro C, Grazzini G, Angeloni C, Capparucci P, Pellegrini A, Schiboni ML, Sperati A, Confortini M, Bellanova C, D’Addetta A, Mania E, Visioli CB, Sereno E, Carozzi F. The effect of self-sampled HPV testing on participation to cervical cancer screening in Italy: a randomised controlled trial. *Br J Cancer*. 2011 Jan 18;104(2):248–54.

Gök M, Heideman DAM, Kemenade FJ van, Vries ALM de, Berkhof J, Rozendaal L, Beliën JAM, Overbeek L, Babović M, Snijders PJF, Meijer CJLM. Offering self-sampling for human papillomavirus testing to non-attendees of the cervical screening programme: Characteristics of the responders. *European Journal of Cancer*. 2012 Aug 1;48(12):1799–808.

Guedes AC, Zeferino LC, Syrjänen KJ, Brenna SMF. Short-term Outcome of Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2: Considerations for Management Strategies and Reproducibility of Diagnosis. *Anticancer Res*. 2010 Jan 6;30(6):2319–23.

Hesselink AT, Sahli R, Berkhof J, Snijders PJF, van der Salm ML, Agard D, Bleeker MCG, Heideman DAM. Clinical validation of Anyplex™ II HPV HR Detection according to the guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening. *J Clin Virol*. 2016 Mar;76:36–9.

Ho GYF, Einstein MH, Romney SL, Kadish AS, Abadi M, Mikhail M, Basu J, Thysen B, Reimers L, Palan PR, Trim S, Soroudi N, Burk RD. Risk Factors for Persistent Cervical Intraepithelial Neoplasia Grades 1 and 2 Managed by Watchful Waiting. *J Low Genit Tract Dis*. 2011 Oct;15(4):268–75.

Igdbashian S, Boveri S, Spolti N, Radice D, Sandri MT, Sideri M. Self-Collected Human Papillomavirus Testing Acceptability: Comparison of Two Self-Sampling Modalities. *Journal of Women’s Health*. 2011 Feb 25;20(3):397–402.

Jaisamrarn U, Castellsagué X, Garland SM, Naud P, Palmroth J, Rosario-Raymundo MRD, Wheeler CM, Salmerón J, Chow S-N, Apter D, Teixeira JC, Skinner SR, Hedrick J, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WAJ, Bosch FX, de Carvalho NS, Germar MJ, Peters K, Paavonen J, Bozonnet M-C, Descamps D, Struyf F, Dubin GO, Rosillon D, Baril L, Group HPS. Natural History of Progression of HPV Infection to Cervical Lesion or Clearance: Analysis of the Control Arm of the Large, Randomised PATRICIA Study. *PLOS ONE*. 2013 Nov 19;8(11):e79260.

Jones HE, Brudney K, Sawo DJ, Lantigua R, Westhoff CL. The Acceptability of a Self-Lavaging Device Compared to Pelvic Examination for Cervical Cancer Screening Among Low-Income Women. *Journal of women's health*, Volume 21, Number 12, 2012

Kjaer SK, Munk C, Winther JF, Jørgensen HO, Meijer CJLM, van den Brule AJC. Acquisition and persistence of human papillomavirus infection in younger men: a prospective follow-up study among Danish soldiers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005 Jun;14(6):1528–33.

Kruse A-J, Baak JPA, Janssen EA, Kjellevoid K-H, Fianec B, Lovslett K, Bergh J, Robboy S. Ki67 Predicts Progression in Early CIN: Validation of a Multivariate Progression-Risk Model. *Cell Oncol*. 2004;26(1–2):13–20.

Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, Koutsky LA. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA*. 2002 Oct 9;288(14):1749–57.

Kwon M-J, Roh KH, Park H, Woo H-Y. Comparison of the Anyplex II HPV28 assay with the Hybrid Capture 2 assay for the detection of HPV infection. *Journal of Clinical Virology*. 2014 Apr;59(4):246–9.

Lazarczyk M, Cassonnet P, Pons C, Jacob Y, Favre M. The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2009 Jun;73(2):348–70.

Lazcano-Ponce E, Lorincz AT, Cruz-Valdez A, Salmerón J, Uribe P, Velasco-Mondragón E, Nevarez PH, Acosta RD, Hernández-Avila M. Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. *The Lancet*. 2011 Dec 2;378(9806):1868–73.

Lehtinen M, Paavonen J, Wheeler CM, Jaisamrarn U, Garland SM, Castellsagué X, Skinner SR, Apter D, Naud P, Salmerón J, Chow S-N, Kitchener H, Teixeira JC, Hedrick J, Limson G, Szarewski A, Romanowski B, Aoki FY, Schwarz TF, Poppe WAJ, de Carvalho NS, Germar MJV, Peters K, Mindel A, de Sutter P, Bosch FX, David M-P, Descamps D, Struyf F, Dubin G. Overall efficacy of HPV-16/18 AS04-adjuvanted vaccine against grade 3 or greater cervical intraepithelial neoplasia: 4-year end-of-study analysis of the randomised, double-blind PATRICIA trial. *The Lancet Oncology*. 2012 Jan;13(1):89–99.

Lindemann ML, Rodriguez Dominguez MJ, Chacón de Antonio J, Sandri MT, Tricca A, Sideri M, Khiri H, Ravet S, Boyle S, Aldrich C, Halfon P. Analytical Comparison of the cobas HPV Test with Hybrid Capture 2 for the Detection of High-Risk HPV Genotypes. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2012 Jan;14(1):65–70.

Lustman M, Vega A, Noc YL, Vallée J-P. Cancer du col de l'utérus. Regards croisés sur le dépistage Première partie : quels sont les problèmes ? *Médecine*. 2009 Mar 1;5(3):137–41.

Menvielle G, Luce D, Geoffroy-Perez B, Chastang J-F, Leclerc A. Social inequalities and cancer mortality in France, 1975-1990. *Cancer Causes Control*. 2005 Jun;16(5):501–13.

Mighty KK, Laimins LA. The role of human papillomaviruses in oncogenesis. *Recent Results Cancer Res*. 2014;193:135–48.

Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat J-C, Syrjänen K, Halfon P, Ruiz F, Smith JS. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: The FASE study. *Int J Cancer*. 2011 Aug 1;129(3):691–701.

Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJLM, Shah KV, Walboomers JMM, Herrero R, Franceschi S, International Agency for Research on Cancer. Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002 Mar 30;359(9312):1085–92.

Moscicki AB, Ellenberg JH, Vermund SH, Holland CA, Darragh T, Crowley-Nowick PA, Levin L, Wilson CM. Prevalence of and risks for cervical human papillomavirus infection and squamous intraepithelial lesions in adolescent girls: impact of infection with human immunodeficiency virus. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2000 Feb;154(2):127–34.

- Moscicki AB, Schiffman M, Burchell A, Albero G, Giuliano AR, Goodman MT, Kjaer SK, Palefsky J. Updating the natural history of human papillomavirus and anogenital cancers. *Vaccine*. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F24-33.
- Motamedi M, Böhmer G, Neumann HH, von Wasielewski R. CIN III lesions and regression: retrospective analysis of 635 cases. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2015 Nov 21 [cited 2016 Apr 16];15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4654894/>
- Mougin C, Nicolier M, Decrion-Barthod A-Z. HPV et cancers : mécanismes de l'oncogénèse. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2008 Oct;2008(405):35-42.
- Mullins R, Scalzo K, Sultana F. Self-sampling for cervical screening: could it overcome some of the barriers to the Pap test? *J Med Screen*. 2014 Dec;21(4):201-6.
- Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, Grace M, Huh K. Mechanisms of Human Papillomavirus-Induced Oncogenesis. *J Virol*. 2004 Jan 11;78(21):11451-60.
- Münger K, Howley PM. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res*. 2002 Nov;89(2):213-28.
- Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*. 2006 Aug 21;24, Supplement 3:S1-10.
- Nicolau P, Mancebo G, Agramunt S, Solé-Sedeño JM, Bellosillo B, Muset MM, Lloveras B, Alameda F, Carreras R. Urine human papillomavirus prevalence in women with high-grade cervical lesions. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2014 Dec;183:12-5.
- Nieminen P. Optimizing cervical cancer screening in Finland. *HPV Today*. 2012;(26)
- Nogawa T, Hiura M, Tanaka H, Saito T, Furuta R, Watanabe K, Kita T., Yamamoto K, Mikami M, Takizawa K (Japan Gynecologic Oncology Group). Prospective evaluation of the Amplicor HPV test for predicting progression of cervical intraepithelial neoplasia 2. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013 Aug 1;39(8):1347-53.
- Nygård JF, Sauer T, Skjeldestad FE, Skare GB, Thoresen SØ. CIN 2/3 and cervical cancer after an ASCUS pap smear. A 7-year, prospective study of the Norwegian population-based, coordinated screening program. *Acta Cytol*. 2003 Dec;47(6):991-1000.
- Ostör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*. 1993 Apr;12(2):186-92.
- Pathak N, Dodds J, Zamora J, Khan K. Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2014 Sep 16;349:g5264.
- Payan C, Ducancelle A, Aboubaker MH, Caer J, Tapia M, Chauvin A, Peyronnet D, Hen EL, Arab Z, Legrand M-C, Tran A, Postec E, Tourmen F, Avenel M, Malbois C, Brux M-AD, Descamps P, Lunel F. Human Papillomavirus Quantification in Urine and Cervical Samples by Using the Mx4000 and LightCycler General Real-Time PCR Systems. *J Clin Microbiol*. 2007 Jan 3;45(3):897-901.
- Peralta-Rodríguez R, Romero-Morelos P, Villegas-Ruiz V, Mendoza-Rodríguez M, Taniguchi-Ponciano K, González-Yebra B, Daniel Marrero-Rodríguez D, Salcedo M. Prevalence of human papillomavirus in the cervical epithelium of Mexican women: meta-analysis. *Infect Agent Cancer*. 2012 Dec 3;7:34.
- Piana L, Leandri F-X, Le Retraite L, Heid P, Tamalet C, Sancho-Garnier H. L'auto-prélèvement vaginal à domicile pour recherche de papilloma virus à haut risque. Campagne expérimentale du département des Bouches-du-Rhône. *Bulletin du Cancer*. 2011 Jul;98(7):723-31.
- Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, Seme K. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update. *Journal of Clinical Virology*. 2016 Mar 1;76:S3-13.
- Prétet J-L, Jacquard A-C, Carcopino X, Charlot J-F, Bouhour D, Kantelip B, Soubeyrand B, Leocmach Y, Mougin C, Riethmuller D, EDITH study group. Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in invasive cervical cancers in France: EDITH study. *Int J Cancer*. 2008 Jan 15;122(2):428-32.
- Ramoz N, Rueda L-A, Bouadjar B, Montoya L-S, Orth G, Favre M. Mutations in two adjacent novel genes are associated with epidermodysplasia verruciformis. *Nat Genet*. 2002 Dec;32(4):579-81.

Riethmuller D, Ramanah R, Pretet J-L, Mougin C. Intégration du test HPV dans le dépistage primaire ? *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 2008 Feb;37(1, Supplement):S139–51.

Riethmuller D, Jacquard A-C, Lacau St Guily J, Aubin F, Carcopino X, Pradat P, Dahlab A, Prétet J-L. Potential impact of a nonavalent HPV vaccine on the occurrence of HPV-related diseases in France. *BMC Public Health* [Internet]. 2015 May 2 [cited 2016 Mar 23];15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4433025/>
Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, Solomon D, Burk R. Rapid Clearance of Human Papillomavirus and Implications for Clinical Focus on Persistent Infections. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Apr 2;100(7):513–7.

Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Palma PD, Naldoni C, Ghiringhello B, Giorgi-Rossi P, Minucci D, Parisio F, Pojer A, Schiboni ML, Sintoni C, Zorzi M, Segnan N, Confortini M. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. *BMJ*. 2007 Jul 5;335(7609):28.

Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJF, Arbyn M, Kitchener H, Segnan N, Gilham C, Giorgi-Rossi P, Berkhof J, Peto J, Meijer CJLM. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *Lancet*. 2014 Feb 8;383(9916):524–32.

Sahasrabudde VV, Gravitt PE, Dunn ST, Brown D, Allen RA, Eby YJ. Comparison of Human Papillomavirus Detections in Urine, Vulvar, and Cervical Samples from Women Attending a Colposcopy Clinic. *J Clin Microbiol*. 2014 Jan;52(1):187–92.

Sancho-Garnier H, Tamalet C, Halfon P, Leandri F x., Retraite LL, Djoufelkit K, Heid P, Davies P, Piana L. HPV self-sampling or the Pap-smear: A randomized study among cervical screening nonattenders from lower socioeconomic groups in France. *Int J Cancer*. 2013 Dec 1;133(11):2681–7.

Sandri MT, Lentati P, Benini E, Dell’Orto P, Zorzino L, Carozzi FM, Maisonneuve P, Passerini R, Salvatici M, Casadio C, Boveri S, Sideri M. Comparison of the Digene HC2 assay and the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test for detection of high-risk HPV genotypes in cervical samples. *J Clin Microbiol*. 2006 Jun;44(6):2141–6.

Sanner K, Wikström I, Strand A, Lindell M, Wilander E. Self-sampling of the vaginal fluid at home combined with high-risk HPV testing. *Br J Cancer*. 2009 Sep 1;101(5):871–4.

Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Morales J, Guillen D, Alfaro M, Hutchinson M, Wright TC, Solomon D, Chen Z, Schussler J, Castle PE, Burk RD. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology*. 2005 Jun 20;337(1):76–84.

Schiller JT, Day PM, Kines RC. Current understanding of the mechanism of HPV infection. *Gynecol Oncol*. 2010 Jun;118(1 Suppl):S12–7.

Sellers JW, Lorincz AT, Mahony JB, Mielzynska I, Lytwyn A, Roth P, Howard M, Chong S, Daya D, Chapman W, Chernesky M. Comparison of self-collected vaginal, vulvar and urine samples with physician-collected cervical samples for human papillomavirus testing to detect high-grade squamous intraepithelial lesions. *CMAJ*. 2000 May 9;163(5):513–8.

Siebers AG, Klinkhamer PM, Grefte JM. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2009 Oct 28;302(16):1757–64.

Singh VB, Gupta N, Nijhawan R, Srinivasan R, Suri V, Rajwanshi A, Singh V. Liquid-based cytology versus conventional cytology for evaluation of cervical Pap smears: Experience from the first 1000 split samples. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 2015;58(1):17.

Snijders PJF, Verhoef VMJ, Arbyn M, Ogilvie G, Minozzi S, Banzi R, van Kemenade FJ, Heideman DAM, Meijer CJLM. High-risk HPV testing on self-sampled versus clinician-collected specimens: a review on the clinical accuracy and impact on population attendance in cervical cancer screening. *Int J Cancer*. 2013 May 15;132(10):2223–36.

Stanczuk GA, Currie H, Baxter G, Foster A, Gibson L, Graham C, Cuschieri K. Cobas 4800 HPV detection in the cervical, vaginal and urine samples of women with high-grade CIN before and after treatment. *J Clin Pathol*. 2015 Jul;68(7):567–70.

Stanley M. Immune responses to human papillomavirus. *Vaccine*. 2006 Mar 30;24 Suppl 1:S16–22.

Stanley M. HPV - immune response to infection and vaccination. *Infect Agent Cancer*. 2010 Oct 20;5:19.

- Stanley M. Perspective: Vaccinate boys too. *Nature*. 2012 Aug 30;488(7413):S10.
- Stanley MA. Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Jan 4;25(2):215–22.
- Sterling JC, Handfield-Jones S, Hudson PM, British Association of Dermatologists. Guidelines for the management of cutaneous warts. *Br J Dermatol*. 2001 Jan;144(1):4–11.
- Sun X-W, Kuhn L, Ellerbrock TV, Chiasson MA, Bush TJ, Wright TCJ. Human Papillomavirus Infection in Women Infected with the Human Immunodeficiency Virus. *New England Journal of Medicine*. 1997 Nov 6;337(19):1343–9.
- Tamalet C, Halfon P, Retraite LL, Grob A, Leandri FX, Heid P, Sancho-Garnier H, Piana L. Genotyping and follow-up of HR-HPV types detected by self-sampling in women from low socioeconomic groups not participating in regular cervical cancer screening in France. *Journal of Clinical Virology*. 2016 May;78:102–7.
- Tommasino M. The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2014 Jun;26:13–21.
- Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Clifford GM, Smith JS, Lazcano-Ponce E, Sukvirach S, Shin H-R, de Sanjose S, Molano M, Matos E, Ferreccio C, Anh PTH, Thomas JO, Meijer CJLM, Group I.H.P.S.S. Sexual Behavior, Condom Use, and Human Papillomavirus: Pooled Analysis of the IARC Human Papillomavirus Prevalence Surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006 Jan 2;15(2):326–33.
- Van Delft KWM, Mertens HJMM. Treatment strategies in intermediate cervical neoplasia: Implications of radical surgery. *Oncol Lett*. 2011 May;2(3):575–8.
- Veldhuijzen NJ, Snijders PJ, Reiss P, Meijer CJ, van de Wijgert JH. Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect Dis*. 2010 Dec;10(12):862–74.
- Verhoef VM, Dijkstra MG, Bosgraaf RP, Hesselink AT, Melchers WJ, Bekkers RL, Berkhof J, van Kemenade FJ. A second generation cervico-vaginal lavage device shows similar performance as its preceding version with respect to DNA yield and HPV DNA results. *BMC Women's Health*. 2013;13:21.
- Virtanen A, Nieminen P, Niironen M, Luostarinen T, Anttila A. Self-sampling experiences among non-attendees to cervical screening. *Gynecologic Oncology*. 2014 Dec 1;135(3):487–94.
- Williams HC, Pottier A, Strachan D. The descriptive epidemiology of warts in British schoolchildren. *Br J Dermatol*. 1993 May;128(5):504–11.
- Woodhall S, Ramsey T, Cai C, Crouch S, Jit M, Birks Y, Edmunds WJ, Newton R, Lacey CJN. Estimation of the impact of genital warts on health-related quality of life. *Sex Transm Infect*. 2008 Jun;84(3):161–6.
- Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: End of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecologic Oncology*. 2015 Feb 1;136(2):189–97.
- Yokoyama M, Iwasaka T, Nagata C, Nozawa S, Sekiya S, Hirai Y, Kanazawa K, Sato S, Hoshiai H, Sugase M, Kawana T, Yoshikawa H. Prognostic factors associated with the clinical outcome of cervical intraepithelial neoplasia: a cohort study in Japan. *Cancer Letters*. 2003 Mar 31;192(2):171–9.
- zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology*. 2009 Feb 20;384(2):260–5.
- Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France sur la période 1980-2012. Partie 1 – Tumeurs solides.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 30]. Available from: http://www.invs.sante.fr/content/download/70152/266151/version/3/file/rapport_estimation_nationale_incidence_mortalite_cancer_france_1980_2012_tumeurs_solides.pdf
- HCSP - Infections à HPV des jeunes filles : révision de l'âge de vaccination, septembre 2012 [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=302>
- INCa – Prévention et dépistage du cancer du col de l'utérus 2013.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: <http://www.cancer-environnement.fr/Portals/0/Documents%20PDF/Rapport/INCa/FR-Prevention-depistage-cancer-col-uterus-2013%5B1%5D.pdf>

InVS | BEH n°2 (11 janvier 2005). Lésions précancéreuses et cancers du col de l'utérus diagnostiqués par le frottis cervical. Ile-de-France, enquête Crisap, 2002. [Internet]. [cited 2016 Mar 30]. Available from: <http://www.invs.sante.fr/beh/2005/02/>

InVS | BEH n°13-14-15 (20 mai 2014). Pathologie cervico-utérine : dépistage et surveillance des lésions précancéreuses et cancéreuses [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: http://www.invs.sante.fr/beh/2014/13-14-15/2014_13-14-15_3.html

InVS | Estimation des couvertures vaccinales en secteur libéral à travers l'échantillon généraliste des bénéficiaires en France [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: http://www.invs.sante.fr/publications/2010/couverture_vaccinale_egb/index.html

Plan cancer 2014-2019 V4.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: <http://www.e-cancer.fr/content/download/63441/570837/file/Plan-cancer-2014-2019-V4.pdf>

Recommandations ANAES - Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal - Actualisation 2002.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/frottis_final_-_recommandations.pdf

Recommandation du Conseil de l'Union Européenne relative au cancer, 2 décembre 2003. Journal officiel de l'Union Européenne. Recommandations_europeennes.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: http://apremas.org/assets/files/pdf/recommandations_europeennes.pdf

Recommandation HAS : État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus en France. argumentaire_recommandations_depistage_cancer_du_col_de_luterus.pdf [Internet]. [cited 2016 Mar 11]. Available from: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-11/argumentaire_recommandations_depistage_cancer_du_col_de_luterus.pdf

IX. Annexes

Annexe 1. Note d'information

Etude SELFIPUR
DETECTION D'UNE INFECTION A PAPILOMAVIRUS DU COL UTERIN PAR AUTO-PRELEVEMENT VAGINAL OU URINAIRE :
UNE ALTERNATIVE AU FROTIS CERVICO-UTERIN POUR DEPISTER DES LESIONS PRECANCEREUSES DU COL DE L'UTERUS

Le cancer du col de l'utérus est dû à certains papillomavirus (HPV) dits à haut-risque

Le dépistage du cancer du col de l'utérus repose sur le frottis qui est recommandé tous les 3 ans

Si environ 60% des femmes font des frottis, seules 8% en font tous les 3 ans

Le plan cancer 2014-2019 recommande de positionner dans le dispositif de dépistage l'alternative par auto-prélèvement pour les femmes qui ne sont pas adhérentes au frottis

L'étude **SELFIPUR** vise à répondre aux questions suivantes :

- Est-ce que les auto-prélèvements vaginaux ou urinaux vous paraissent plus facilement réalisables et/ou acceptables que le frottis et pourquoi ?
- Lequel des auto-prélèvements vous paraît le plus faisable et le plus acceptable ?
- Feriez-vous plus volontiers un dépistage si on vous proposait l'auto-prélèvement à domicile ?
- Lequel des auto-prélèvements est plus sensible pour détecter une infection à HPV ?

- Toutes les femmes de 25 à 65 ans peuvent participer à cette étude.
- Toutes les étapes sont complètement anonymes
- La recherche de papillomavirus est faite gratuitement et le résultat sera transmis de façon anonyme à chaque participante

Cette étude pilote est proposée par le Département de Agents infectieux (UF MMS et Virologie)
DES REUNIONS D'INFORMATION AURONT LIEU LES 26, 31 MARS et 7, 14 AVRIL à 13h30 SALLE MIMOSA , le 3 AVRIL 13h30 SALLE BLEUET et les 30 MARS et 13 AVRIL 13h30 SALLE MYOSOTIS. Une information personnalisée pourra être donnée sur demande. **VENEZ NOMBREUSES !**

Contacts : Agnes Beby-Defaux poste 46433 ou 06 47 05 88 79 / François Robert 06 76 17 63 69 / Magali Garcia poste 44977

Etude SELFIPUR

DETECTION D'UNE INFECTION A PAPILOMAVIRUS DU COL UTERIN PAR AUTO-PRELEVEMENT VAGINAL OU URINAIRE

UNE ALTERNATIVE AU FROTIS CERVICO-UTERIN POUR DEPISTER DES LESIONS PRECANCEREUSES DU COL DE L'UTERUS

Comment procéder ?

KIT DE PRELEVEMENT ET NOTICES

- Aller chercher le kit SELFIPUR situé dans la boîte **BLEUE** :
 - 1^{er} étage : dans le laboratoire de garde de bactériologie
 - 2^{ème} étage UBM : au niveau de l'accueil des nacelles de chaque service

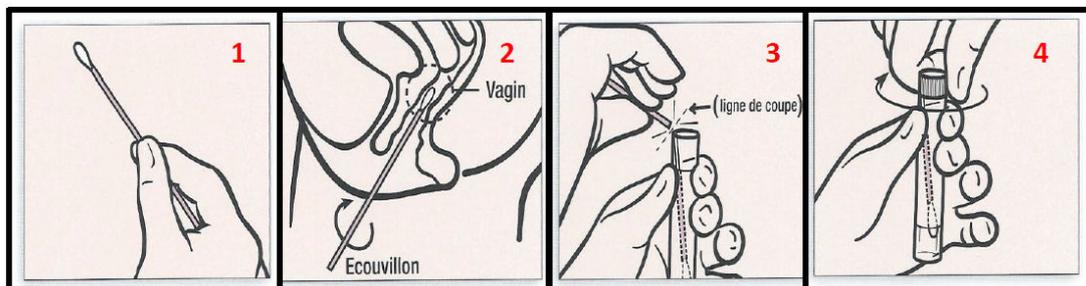
CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT

- Lavage soigneux des mains avant les prélèvements
- Pour les urines : le matin de préférence, urines du 1^{er} jet (ou au moins 2h sans avoir uriné)
- Pour l'auto-prélèvement :
 - En dehors de la période de règles
 - Pas de rapport sexuel depuis 24h
- Ordre pour l'auto-prélèvement : auto-prélèvement avec l'écouvillon puis Delphi Screener

1 - **RECUEIL D'URINES** : urines du 1^{er} jet dans le pot à urines (bouchon rouge)

2 - AUTO-PRÉLÈVEMENT VAGINAL AVEC ÉCOUVILLON

- Ouvrir partiellement le sachet puis prendre l'écouvillon sans en toucher l'embout
- Introduire l'écouvillon dans le vagin sur 5 cm à peu près et tourner doucement l'écouvillon en appuyant sur les parois (il faut recueillir des cellules car les virus sont intracellulaires) pendant 10 à 30 secondes
- Retirer l'écouvillon en évitant de toucher la peau
- Dévisser le bouchon du tube, mettre l'écouvillon dans le milieu de transport et casser précautionneusement la tige de l'écouvillon contre le rebord du tube (au niveau de la ligne de casse) puis refermer le tube et le mettre au réfrigérateur



3 - **AUTO-PRÉLÈVEMENT VAGINAL AVEC LE DISPOSITIF DELPHI SCREENER** : Voir la notice incluse dans la boîte

4 - QUE FAIRE DES ÉCHANTILLONS ? Tube à bouchon rouge contenant l'écouvillon cassé + tube à bouchon transparent contenant le liquide recueilli par le delphiscreener + pot à urines

- Les déposer dans la poche SAFETYBAG trouvée dans la boîte Delphi Screener : conserver l'ensemble au réfrigérateur en attendant le transport au labo puis mettre le SAFETYBAG contenant les échantillons dans la pochette plastique jaune avec le questionnaire rempli sous enveloppe.
- Déposer l'ensemble (échantillons + questionnaire) dans la boîte **VERTE** située dans la salle où vous avez pris précédemment le kit SELFIPUR

5 - **COMMENT RECUPERER SON RESULTAT ?** : le résultat sera mis dans les 15 jours dans une enveloppe portant le numéro de la participante et déposé dans la boîte **JAUNE RESULTATS** située à côté des autres boîtes.

6 - **QUI CONTACTER EN CAS DE QUESTION ?** : François Robert, interne, 06 76 17 63 69 ; Dr Agnès Beby-Defaux 05 49 44 38 15 ou DECT 46433 ; Dr Magali GARCIA 05 49 44 49 77

Questionnaire

1. Quel âge avez-vous ? ans
2. Avez-vous des enfants ?
 - Oui : nombre = ...
 - Non
3. Avez-vous un gynécologue ?
 - Oui
 - Non
4. Oui, est-ce que vous le voyez
 - Une fois par an
 - Tous les 3 ans pour faire un frottis
 - Episodiquement pour des raisons autres
5. Prenez-vous une contraception ?
 - Oui, pilule
 - Oui, préservatif
 - Oui, stérilet
 - Oui, autre :
 - Non, aucune contraception
6. Savez-vous pourquoi il faut faire un frottis ?
 - Pour détecter une infection génitale
 - Pour détecter des lésions précancéreuses
 - Pour détecter un cancer
 - Je ne sais pas
7. Avez-vous déjà fait un frottis ?
 - Oui
 - Non
8. Si oui, à quelle fréquence en faites-vous habituellement?
 - Tous les ans
 - Tous les 2 ans
 - Tous les 3 ans
 - Jamais
 - Autre
9. Si oui, de quand date votre dernier frottis du col de l'utérus ?
 - > 5 ans
 - > entre 3 et 5 ans
 - < 3 ans :
 - Vous n'en avez jamais fait
10. Savez-vous quel était son résultat :
 - Normal
 - Anormal :
 - Ne sait pas
11. Avez-vous déjà subi un traitement pour des lésions précancéreuses du col de l'utérus ?
 - Oui
 - Non
 - Ne sait pas
12. Si vous faites des frottis, qui pratique le frottis ?
 - Médecin généraliste
 - Gynécologue hospitalier
 - Anatomopathologiste
 - Gynécologue privé
 - Biologiste privé
 - Sage-femme

- 13. Si vous ne faites pas ou pas régulièrement de frottis, pourquoi ?**
- Vous ne saviez pas qu'il fallait en faire
 - Gênant
 - Douloureux
 - Désagréable
 - Vous ne savez pas à quoi ça sert
 - C'est difficile d'avoir un rendez-vous
 - Vous manquez de temps
 - Vous n'avez pas de gynécologue
 - Vous n'avez pas envie que votre généraliste fasse ce genre d'examen
 - Votre gynécologue ne vous a pas dit qu'il fallait en faire tous les 3 ans
 - Votre généraliste ne vous a pas dit qu'il fallait en faire tous les 3 ans
- 14. Avant la présentation de l'étude, aviez-vous entendu parler des papillomavirus ?**
- Oui
 - Non
- 15. Avant la présentation de l'étude, saviez-vous que ces virus étaient responsables du cancer du col de l'utérus ?**
- Oui
 - Non
- 16. Après avoir réalisé l'auto-prélèvement avec les 2 dispositifs et le recueil d'urines, lequel préféreriez-vous comme alternative au frottis (classer de 1 à 3)**
- Auto-prélèvement avec écouvillon
 - Auto-prélèvement avec delphiscreener
 - Recueil d'urines
- 17. Préféreriez-vous (feriez-vous plus volontiers) :**
- Faire un envoi du prélèvement par la poste
 - Déposer le prélèvement dans un laboratoire de biologie médicale
 - Déposer le prélèvement dans un centre d'examens de santé
- 18. Lequel vous paraît plus facile à réaliser ? Classer de 1 à 4 du plus facile au moins facile**
- Auto-prélèvement avec écouvillon à domicile
 - Auto-prélèvement avec delphiscreener à domicile
 - Recueil d'urines à domicile
 - Frottis fait par un professionnel
- 19. Lequel vous paraît le moins gênant ? Classer de 1 à 4 du plus gênant au moins gênant**
- Auto-prélèvement avec écouvillon à domicile
 - Auto-prélèvement avec delphiscreener à domicile
 - Recueil d'urines à domicile
 - Frottis fait par un professionnel
- 20. Est-ce que l'auto-prélèvement avec écouvillon vous a semblé (côter de 0 = pas, 1 = un peu, 2 = très)**
- Douloureux 0 – 1 – 2
 - Désagréable 0 – 1 – 2
 - Gênant 0 – 1 – 2
 - Difficile à faire 0 – 1 – 2
- 21. Est-ce que l'auto-prélèvement par delphiscreener vous a semblé (côter de 0 = pas, 1 = un peu, 2 = très)**
- Douloureux 0 – 1 – 2
 - Désagréable 0 – 1 – 2
 - Gênant 0 – 1 – 2
 - Difficile à faire 0 – 1 – 2
- 22. Seriez-vous plus disposée à faire le dépistage des lésions précancéreuses et du cancer si on vous proposait un :**
- Auto-prélèvement vaginal à domicile par écouvillon
 - Auto-prélèvement à domicile par dispositif de lavage (delphiscreener)
 - Un recueil d'urines à domicile
 - Une invitation par courrier à aller faire un frottis
 - Un rendez-vous dans un centre spécifique pour faire un frottis effectué par un médecin ou une sage-femme
 - Je ne serais pas plus disposée

Annexe 4. Résultats

4.1. Population étudiée

	Patientes (n= 83)	Pourcentage
Age		
Moyenne	43	
Médiane	43	
Agés extrêmes	26-64	
Enfants		
Oui	68/83	82%
Non	15/83	18%
Nombre d'enfants		
0	15/83	18%
1	21/83	26%
2	33/83	40%
3	11/83	13%
4	2/83	2%

4.2. Suivi gynécologique et contraception des patientes

	Patientes	Pourcentage
La patiente a-t-elle un gynécologue ?		
Oui	68/83	82%
Non	15/83	18%
A quelle fréquence le voit-elle ?		
Une fois par an	44/68	65%
Tous les 3 ans	21/68	31%
Episodiquement	3/68	4%
La patiente a-t-elle une contraception ?		
Oui : pilule	19/83	23%
Oui : préservatif	5/83	6%
Oui : stérilet	19/83	23%
Oui : autre ?	2/83*	2%
Non, aucune contraception	38/83	46%
La patiente sait-elle pourquoi il faut faire un FCU ?		
Pour détecter une infection génitale ?	27/83	33%
Pour détecter des lésions précancéreuses ?	73/83	88%
Pour détecter un cancer ?	47/83	57%
Ne sait pas	0/83	0%
La patiente a-t-elle déjà bénéficié d'un FCU ?		
Oui	81/83	98%
Non	2/83	2%
Si oui, à quelle fréquence a-t-elle des FCU ?		
Tous les ans	9/81	11%
Tous les 2 ans	25/81	31%
Tous les 3 ans	40/81	49%
Jamais	0/81	0%
Autre	7/81	9%
Si oui, de quand date le dernier FCU ?		
> 5 ans	4/80	5%
entre 3 et 5 ans	9/80	11%
< 3 ans	67/80	84%
Jamais fait	0/80	0%
Quel était son résultat ?		
Normal	75/81	93%
Anormal	1/81 (CIN1)	1%
Ne sait pas	5/81	6%
La patiente a-t-elle déjà suivi un traitement pour des lésions précancéreuses du col ?		
Oui	4/83	5%
Non	78/83	94%
Ne sait pas	1/83	1%
Qui pratique le FCU ?		
Médecin généraliste	15/80	19%

Gynécologue libéral	57/80	71%
Gynécologue hospitalier	6/80	8%
Biologiste médical libéral	0/80	0%
Anatomo-pathologiste	0/80	0%
Sage femme	2/80	2%
Si pas de FCU, pourquoi ?		
La patiente ne savait pas qu'il fallait en faire	0/18	0%
La patiente trouve cela gênant	4/18	22%
La patiente trouve cela douloureux	0/18	0%
La patiente trouve cela désagréable	8/18	44%
La patiente ne sait pas à quoi cela sert	0/18	0%
Il est difficile d'avoir un rendez-vous	8/18	44%
Par manque de temps	6/18	33%
Pas de gynécologue	4/18	22%
La patiente n'a pas envie que le généraliste fasse le FCU	2/18	11%
Le gynécologue n'a pas dit d'en faire tous les 3 ans	0/18	0%
Le généraliste n'a pas dit d'en faire tous les 3 ans	1/18	6%
La patiente a-t-elle déjà entendu parler d'HPV ?		
Oui	83/83	100%
Non	0/83	0%
La patiente savait-elle qu'HPV était responsable du cancer du col ?		
Oui	77/83	93%
Non	6/83	7%

* (1 anneau vaginal et 1 implant)

4.3. Acceptabilité, faisabilité des différents prélèvements

	Patientes	Pourcentage
Lequel des auto-prélèvements est le préféré ?		
Écouvillon	20/76	26%
Delphi-screener®	21/76	28%
Urines	41/76	53%
Comment rendre l'auto-prélèvement ?		
Envoi postal	25/80	31%
Dépôt dans un laboratoire de biologie médicale	46/80	57%
Dépôt dans un centre d'exams de santé	9/80	11%
Lequel est le plus facile à réaliser?		
Auto-prélèvement par écouvillon		
1 ^{er}	19/79	24%
2 ^{ème}	27/79	34%
3 ^{ème}	24/79	30%
4 ^{ème}	9/79	11%
Auto-prélèvement par Delphi-screener®		
1 ^{er}	11/80	14%
2 ^{ème}	26/80	33%
3 ^{ème}	35/80	44%
4 ^{ème}	8/80	10%
Auto-prélèvement par recueil d'urines		
1 ^{er}	47/83	57%
2 ^{ème}	16/83	19%
3 ^{ème}	14/83	17%
4 ^{ème}	6/83	7%
FCU par un clinicien		
1 ^{er}	8/79	10%
2 ^{ème}	9/79	11%
3 ^{ème}	6/79	8%
4 ^{ème}	56/79	71%
Lequel est le moins gênant à réaliser?		
Auto-prélèvement par écouvillon		
1 ^{er}	11/81	14%
2 ^{ème}	33/81	41%
3 ^{ème}	30/81	37%
4 ^{ème}	7/81	8%
Auto-prélèvement par Delphi-screener®		
1 ^{er}	11/82	13%
2 ^{ème}	27/82	33%

3 ^{ème}	32/82	39%
4 ^{ème}	12/82	15%
Auto-prélèvement par recueil d'urines		
1 ^{er}	37/83	45%
2 ^{ème}	11/83	13%
3 ^{ème}	17/83	20%
4 ^{ème}	18/83	22%
FCU par un clinicien		
1 ^{er}	27/80	34%
2 ^{ème}	9/80	11%
3 ^{ème}	2/80	2%
4 ^{ème}	42/80	53%
L'auto-prélèvement vaginal par écouvillon a-t-il semblé :		
<u>Douloureux ?</u>		
Pas douloureux	73/82	89%
Un peu douloureux	7/82	9%
Très douloureux	2/82	2%
<u>Désagréable ?</u>		
Pas désagréable	51/82	62%
Un peu désagréable	23/82	28%
Très désagréable	8/82	10%
<u>Gênant ?</u>		
Pas gênant	58/82	71%
Un peu gênant	21/82	26%
Très gênant	3/82	3%
<u>Difficile à faire ?</u>		
Pas difficile	62/82	76%
Un peu difficile	17/82	21%
Très difficile	3/82	3%
L'auto-prélèvement par Delphi-screener® a-t-il semblé :		
<u>Douloureux ?</u>		
Pas douloureux	80/82	98%
Un peu douloureux	2/82	2%
Très douloureux	0/82	0%
<u>Désagréable ?</u>		
Pas désagréable	47/82	57%
Un peu désagréable	33/82	40%
Très désagréable	2/82	3%
<u>Gênant ?</u>		
Pas gênant	49/82	60%
Un peu gênant	31/82	38%
Très gênant	2/82	2%
<u>Difficile à faire ?</u>		
Pas difficile	58/82	71%
Un peu difficile	24/82	29%
Très difficile	0/82	0%
La patiente serait-elle plus disposée à réaliser le dépistage de lésions précancéreuses si on proposait :		
Un auto-prélèvement par écouvillon vaginal à domicile ?	36/83	43%
Un auto-prélèvement par Delphi-screener® à domicile ?	50/83	60%
Un recueil d'urines à domicile ?	46/83	55%
Une invitation par courrier à aller faire un FCU ?	15/83	18%
Un RDV dans un centre spécifique pour aller faire un FCU ?	16/83	19%
La patiente ne serait pas plus disposée ?	1/83	1%

4.4. Différence de détection des HPV selon les patientes

Numéro patiente	HPV HR Urines	HPV BR Urines	HPV HR écouvillon	HPV BR écouvillon	HPV HR Delphi-screener®	HPV BR Delphi-screener®	HPV non détecté
8			53		53		Urines
	56		56		56		
24		42		42		42	
		44		44		44	
			68				Urines Delphi-screener®
27				42		42	Urines
32				44			Urines Delphi-screener®
33			68		68		Urines
37				44		44	Urines
38		11		11		11	
		42		42		42	
50	39		39		39		
		44		44			Delphi-screener®
		54		54		54	
		61					Delphi-screener® Ecouvillon
57	56		56			Delphi-screener®	
61				11			Urines Delphi-screener®
65	53		53		53		
85		61		61		61	
			16		16		Urines
86	59		59		59		
	66		66		66		
	53		53		53		
87		43				43	Ecouvillon
		45					Delphi-screener® Ecouvillon
		53	53		53		
		56	56		56		
		44		44		44	
90	70		70		70		
		54		54		54	
				44		44	Urines
93	53						Delphi-screener® Ecouvillon
		42		42			Delphi-screener®
		44		44			Delphi-screener®
104			68				Urines Delphi-screener®
		44		44		44	

SERMENT DE GALIEN

~~~~~

Je jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

**D'honorer** ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

**D'exercer**, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

**De ne jamais oublier** ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

**En aucun cas**, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

**Que les hommes m'accordent** leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé** de mes confrères si j'y manque.

## X. Résumé

---

**Objectifs :** L'objectif de notre étude pilote était de vérifier le niveau d'acceptabilité et de faisabilité par des patientes de deux types d'auto-prélèvement vaginal et un prélèvement urinaire destinés à la détection de papillomavirus à haut risque oncogène (HPV HR). La détection des HPV HR à partir de ces prélèvements pourrait constituer une alternative à la cytologie de frottis cervico-utérin (FCU) réalisés dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus pour les femmes n'adhérant pas au FCU. Les objectifs secondaires étaient de valider le questionnaire associé et tester les performances d'un kit de PCR en temps réel sur les trois prélèvements proposés.

**Matériels et méthodes :** Les patientes incluses étaient des femmes travaillant au sein du pôle BIOSPHARM du CHU de Poitiers, âgées de 25 à 65 ans, intervalle d'âge ciblé par le dépistage du cancer du col de l'utérus. Des kits (n=105), portant un numéro, contenant une fiche récapitulative concernant la procédure à suivre, une fiche d'information, un questionnaire et le matériel de prélèvement (pot stérile permettant le recueil d'urines, écouvillon associé à un milieu de transport pour l'auto-prélèvement vaginal, dispositif permettant un auto-prélèvement par lavage cervico-vaginal, le Delphi-screener®) ont été mis librement à disposition de façon anonyme à différents sites des services du pôle Biosparm. La détection des HPV a été réalisée par PCR en temps réel à l'aide du kit *Anyplex II HPV28 Detection* (Qiagen) sur les trois prélèvements et le questionnaire a été analysé. Les résultats ont été déposés sous enveloppe dans les différents sites de façon anonyme à l'aide du numéro d'attribution du kit et récupérées librement par les participantes. Si un HPV HR était détecté dans l'un des prélèvements, la réalisation d'un FCU de contrôle était recommandée et la transmission des résultats demandée.

**Résultats :** Les femmes semblent bien accepter les différents prélèvements proposés par l'étude majoritairement qualifiés de peu douloureux, peu désagréables, peu gênants et peu difficile à réaliser, et seraient mêmes plus enclines à réaliser l'un de ces trois prélèvements en lieu et place du FCU dans le cadre d'un dépistage organisé (60 à 43% des cas contre 18 à 19% des cas). Le FCU apparaît comme le prélèvement le plus compliqué à réaliser pour la majorité des femmes alors que le recueil d'urine semble celui que les femmes plébiscitent en alternative au frottis. Dans 17 des 83 kits réceptionnés (soit 20%), un HPV HR au moins a été détecté. Si l'on ne recherche que les HPV HR de classe 1, 2A et 2B ou les HPV HR de classe 1, 2A et HPV66, cette prévalence est alors respectivement de 14 et 10%. L'analyse des résultats montre que le prélèvement le plus contributif pour détecter des HPV HR est l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage avec une sensibilité variable de 88 à 91% pour détecter des HPV HR (contre 64 à 71% pour le Delphi-screener® et 71 à 74% pour l'urine). Sur les quatre femmes ayant transmis leur résultat de FCU, trois avaient un FCU normal et la dernière, un FCU montrant des lésions dysplasiques de bas grade (LSIL). Cependant la colposcopie était négative. Ainsi, aucun cas de lésion CIN2+ n'a pu être mis en évidence.

**Conclusion :** Notre étude a donc confirmé les différentes publications démontrant la bonne acceptabilité de l'auto-prélèvement vaginal ou du prélèvement urinaire dans le cadre de la recherche d'une infection cervicale par un HPV HR et a permis de les classer. La détection des HPV HR est plus sensible quand elle est réalisée à partir de l'auto-prélèvement vaginal par écouvillonnage. L'intérêt majeur de ces techniques réside dans le fait qu'elles permettraient d'augmenter la couverture de dépistage et ainsi de contrôler davantage la prévention du cancer du col.

**Mots clés :** HPV, *human papillomavirus*, cancer du col de l'utérus, dépistage, auto-prélèvement, urine, acceptabilité, PCR en temps réel, génotypage.