

2015-2016

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Qualification en BIOLOGIE MÉDICALE

**LE TEST HPV URINAIRE
PROPOSÉ COMME
ALTERNATIVE AU FROTTIS
CERVICO-UTÉRIN**

**SUIVI VIROLOGIQUE ET GYNÉCOLOGIQUE À DEUX
ANS D'UNE PREMIÈRE CAMPAGNE DE DÉPISTAGE
(ÉTUDE CAPU2)**

CHENOUARD Rachel

Née le 21 septembre 1986 à Ancenis (44)

Sous la direction de Mme DUCANCELLE Alexandra

Membres du jury

Madame le Professeur LUNEL-FABIANI Françoise | Présidente

Madame le Docteur DUCANCELLE Alexandra | Directrice

Madame le Professeur APAIRE-MARCHAIS Véronique | Membre

Madame le Docteur BEBY-DEFAUX Agnès | Membre

Madame le Docteur LE DUC-BANASZUK Anne-Sophie | Membre

Soutenue publiquement le :
4 octobre 2016



UFR SANTÉ

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussignée Rachel Chenouard, déclare être pleinement consciente que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiante le **28/08/2016**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR SANTÉ D'ANGERS

Directeur de l'UFR : Pr Isabelle RICHARD

Directeur adjoint de l'UFR et directeur du département de pharmacie : Pr Frédéric LAGARCE

Directeur du département de médecine : Pr Nicolas LEROLLE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUDRAN Maurice	Rhumatologie	Médecine
AZZOUZI Abdel Rahmène	Urologie	Médecine
BARON-HAURY Céline	Médecine générale	Médecine
BARTHELAIX Annick	Biologie cellulaire	Médecine
BATAILLE François-Régis	Hématologie ; transfusion	Médecine
BAUFRETTON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BEAUCHET Olivier	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BEYDON Laurent	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
BIZOT Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CAILLIEZ Eric	Médecine générale	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CHABASSE Dominique	Parasitologie et mycologie	Médecine
CHAPPARD Daniel	Cytologie et histologie	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
COUTURIER Olivier	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DARSONVAL Vincent	Chirurgie plastique, reconstrucente et esthétique	Médecine
DE BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
ENON Bernard	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FANELLO Serge	Épidémiologie ; économie de la santé et prévention	Médecine
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GARNIER François	Médecine générale	Médecine
GARRE Jean-Bernard	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GRANRY Jean-Claude	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie

HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HUEZ Jean-François	Médecine générale	Médecine
HUNAULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JARDEL Alain	Physiologie	Pharmacie
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
JOLY-GUILLOU Marie-Laure	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LAUMONIER Frédéric	Chirurgie infantile	Médecine
LEFTHERIOTIS Georges	Physiologie	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénéréologie	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
MERCIER Philippe	Anatomie	Médecine
MILEA Dan	Ophtalmologie	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie mycologie	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PICHARD Éric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROHMER Vincent	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET M.-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique ; médecine d'urgence	Médecine
SAINT-ANDRE Jean-Paul	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique pharmaceutique et biostatistique	Pharmacie
SENTILHES Loïc	Gynécologie-obstétrique	Médecine
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SUBRA Jean-François	Néphrologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VENIER Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
ZAHAR Jean-Ralph	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
ZANDECKI Marc	Hématologie ; transfusion	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANNAIX Véronique	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
BAGLIN Isabelle	Pharmacochimie	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et biostatistique	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELLANGER William	Médecine générale	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie et pharmacocinétique	Pharmacie
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVAILLER Alain	Immunologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie	Pharmacie
CRONIER Patrick	Chirurgie orthopédique et traumatologique	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine générale	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
DINOMAIS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FLEURY Maxime	Immunologie	Pharmacie
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JEANGUILLAUME Christian	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACOEUILLE Franck	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
LANDREAU Anne	Botanique	Pharmacie
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Valorisation des substances naturelles	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale Nanovectorisation	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique et bromatologie	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et santé au travail	Médecine
PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistique	Pharmacie
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SIMARD Gilles	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine

TANGUY-SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRICAUD Anne	Biologie cellulaire	Pharmacie
TURCANT Alain	Pharmacologie	Médecine

AUTRES ENSEIGNANTS

AMIARD Stéphane	Informatique	Médecine
AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
CHIKH Yamina	Économie-Gestion	Médecine
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
LAFFILHE Jean-Louis	Officine	Pharmacie
LETERTRE Elisabeth	Coordination ingénierie de formation	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine

REMERCIEMENTS

À Madame le Professeur Françoise LUNEL-FABIANI,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ce jury.

Merci également pour votre contribution à l'élaboration de ce mémoire.

À Madame le Docteur Alexandra DUCANCELLE,

Je vous remercie de la confiance que vous m'avez accordée en me proposant de participer à ce projet.

Merci beaucoup de m'avoir accompagnée tout au long de ce travail.

Merci beaucoup pour votre aide et votre grande disponibilité.

À Madame le Professeur Véronique APAIRE-MARCHAIS,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Merci également pour le temps que vous m'avez consacré au cours de mes deux semestres en virologie.

À Madame le Docteur Agnès BEBY-DEFAUX,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Merci de bien vouloir juger ce travail.

À Madame le Docteur Anne-Sophie LE DUC-BANASZUK,

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Merci également pour l'aide que vous m'avez apportée en répondant à mes nombreuses questions.

À Adeline PIVERT,

Je te remercie de m'avoir formée avec patience à la biologie moléculaire.

Merci d'avoir toujours pris le temps de répondre à mes questions.

Merci pour ta contribution à l'élaboration de ce mémoire.

À Karine LEROY et Tiphanie DUTERTRE,

Je vous remercie pour votre aide « logistique » mais aussi, et surtout, pour votre gentillesse et votre bonne humeur.

Au service de microbiologie du CH du Mans,

Je vous remercie de m'avoir laissé du temps pour rédiger ce mémoire.

Merci notamment au Docteur Céline RAMANTSOA et au Docteur Cyril HOCHE-DELCHET pour leurs encouragements.

À tous les biologistes et techniciens que j'ai côtoyés au cours de ces quatre années d'internat,

Je vous remercie pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises.

REMERCIEMENTS

À mes parents,

Merci pour tout...

Maman, tu souhaitais que je sois concise, j'espère que ça te conviendra.

À Jérémie, Estelle et Benjamin, mes frères et sœurs,

Merci d'être vous, tout simplement. Et bien évidemment, vous êtes les meilleurs !

Estelle, merci d'avoir pris le temps de relire ce mémoire.

À Maïlys, Damien et Johann, les « boules de feu »,

Parce que sans vous ça n'aurait pas été pareil.

Maïlys, merci d'avoir persévétré.

À Cécile et Nathalie,

Humm...Parce que c'est nous trois depuis le début.

À Diane, Julian, Laurane, Rémi, Isabelle, Jean, Justine, et tous les autres,

Pour tous ces bons moments passés ensemble, à l'hôpital ou en dehors, au cours des quatre dernières années. Et pour tous ceux à venir.

À Aislinn, Éloïse, Laureline, Adèle et Karine,

Pour être encore là après toutes ces années.

Liste des abréviations

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AGC	<i>Atypical Glandular Cells</i>
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANAES	Agence Nationale d'Accréditation et d'Évaluation en Santé
APV	Auto-Prélèvement Vaginal
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	ARN messager
ARS	Agence Régionale de Santé
ASCCP	<i>American Society for Colposcopy and Cervical Pathology</i>
ASC-H	<i>Atypical Squamous Cells – cannot exclude High grade squamous intraepithelial lesion</i>
ASC-US	<i>Atypical Squamous Cells of Unknown Significance</i>
cCMTA	<i>cyclic Catcher Melting Temperature Analysis</i>
CCU	Cancer du Col de l'Utérus
CE/IVD	Conforme aux exigences Européennes/In Vitro Diagnostic
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIN	<i>Cervical Intraepithelial Neoplasia</i>
CIS	Carcinome In Situ
CMH	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CNGOF	Conseil National Des Gynécologues et Obstétriciens Français
CNR	Centre National de Référence
Ct	<i>Cycle threshold</i>
DGS	Direction Générale de la Santé
dNTPs	désoxyriboNucléotides TriPhosphate
FCU	Frottis Cervico-Utérin
HAS	Haute Autorité de Santé
HCSP	Haut Conseil de la Santé Publique
HPV	<i>Human PapillomaVirus</i>
HPV BR	HPV à Bas Risque oncogène
HPV HR	HPV à Haut Risque oncogène
HSIL	<i>High grade Squamous Intraepithelial Lesion</i>
INCa	Institut National du Cancer
IST	Infection Sexuellement Transmissible
LCR	<i>Long Control Region</i>

LSIL	<i>Low grade Squamous Intraepithelial Lesion</i>
NABM	Nomenclature des Actes de Biologie Médicale
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PCR TR	PCR en Temps Réel
PV	Prélèvement Vaginal
Se	Sensibilité
Sp	Spécificité
TOCE®	<i>Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension®</i>
UE	Union Européenne
URR	<i>Upstream Regulatory Region</i>
VADS	Voies Aéro-Digestives Supérieures
VHB	Virus de l'Hépatite B
VHC	Virus de l'Hépatite C
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VLP	<i>Virus Like Particles</i>
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive

Plan

INTRODUCTION

GÉNÉRALITÉS

1. Structure du virus

2. Classification des HPV

3. Physiopathologie de l'infection à HPV

3.1. Tropisme cellulaire

3.2. Cycle viral (1),(2)

3.3. Histoire naturelle de l'infection à HPV (1),(2)

3.3.1. Infection productive

3.3.2. Régression immunitaire

3.3.3. Clairance virale/Latence virale

3.3.4. Infection persistante et transformation

4. Épidémiologie et manifestations cliniques des infections à HPV (4)

4.1. Peau

4.2. Muqueuse des VADS

4.3. Muqueuse ano-génitale

5. Diagnostic virologique (4)

5.1. Techniques d'amplification du signal

5.2. Techniques d'amplification de la cible

5.2.1. Amplification de l'ADN viral

5.2.2. Amplification de l'ARN messager (ARNm) viral

6. Prévention des infections à HPV

6.1. Prévention primaire : la vaccination

6.2. Prévention secondaire : le dépistage

6.2.1. Dépistage individuel

6.2.2. Dépistage organisé

6.2.3. Nouvelles stratégies de dépistage

CONTEXTE DE L'ÉTUDE CAPU2

1. Rappels de l'étude CapU1

2. Objectifs de l'étude CapU2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Population étudiée

2. Modalités de l'étude

3. Détection des HPV dans les urines (30)

3.1. Principes biologiques de la technique

3.2. Phase pré-analytique

3.3. Extraction

3.4. Assemblage de la plaque de réaction

3.5. Amplification

3.6. Détection

3.7. Rendu des résultats

- 3.8. Validation de la série
- 3.9. Test INNO-LiPA® HPV Genotyping Extra (Innogenetics)

4. Anyplex™ II HPV28 Detection (Seegene) (31)

- 4.1. Principes biologiques de la technique
- 4.2. Phase pré-analytique
- 4.3. Extraction
- 4.4. Assemblage des barrettes de réaction
- 4.5. Amplification
- 4.6. Détection
- 4.7. Rendu des résultats
- 4.8. Validation de la série

RÉSULTATS

1. Abbott RealTime High Risk HPV

- 1.1. Taux de participation
- 1.2. Prévalence et incidence HPV
- 1.3. Génotypage HPV
- 1.4. Suivi virologique des patientes HPV+ CapU1
- 1.5. Suivi gynécologique des patientes HPV+ CapU2

2. Comparaison de méthodes

- 2.1. Anyplex™ II HPV28 Detection
- 2.2. Comparaison Abbott/Anyplex

3. Synthèse CapU1/CapU2

DISCUSSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

TABLE DES MATIÈRES

ANNEXES

- 1. Annexe 1 : notice explicative pour la réalisation de l'auto-prélèvement urinaire à domicile (fournie avec le kit)**
- 2. Annexe 2 : exemple de rapport de résultats Abbott**
- 3. Annexe 3 : exemple de rapport de résultats Anyplex**

INTRODUCTION

Les papillomavirus sont de petits virus à ADN de la famille des *papillomaviridae*. Ils sont capables d'infecter l'homme (*Human Papillomavirus* ou HPV) ainsi que de nombreux mammifères, avec une spécificité d'espèce étroite.

Ces virus ont un tropisme épithéial : ils infectent les épithéliums malpighiens de la peau et des muqueuses du tractus ano-génital et des voies aéro-digestives supérieures (VADS). Ils sont responsables d'infections généralement bénignes et le plus souvent transitoires. Mais ils peuvent parfois être impliqués dans le développement de cancers épithéliaux (cancer du col de l'utérus (CCU), autres cancers ano-génitaux, cancers de l'oropharynx).

À l'heure actuelle, environ 170 génotypes d'HPV cutanés et muqueux ont été identifiés et répartis en cinq genres. Les HPV muqueux ont été classés en fonction de leur oncogénicité : HPV à haut risque (HVP HR), à risque intermédiaire ou à bas risque (HPV BR) oncogène.

L'infection persistante par un HPV HR est un facteur nécessaire au développement du CCU. Actuellement, en France, le dépistage du CCU est un dépistage individuel reposant sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) chez les femmes âgées de 25 à 65 ans, tous les trois ans, après deux premiers FCU normaux espacés d'un an. La seule indication de la recherche d'HPV HR par biologie moléculaire est le FCU avec anomalies cytologiques de type ASC-US (*Atypical Squamous Cells of Unknown Significance*).

À ce jour, malgré les recommandations de la Haute autorité de santé (HAS), la couverture du dépistage reste insuffisante (60 % en moyenne). Afin d'y remédier, des stratégies d'amélioration du dépistage sont en cours d'étude. Il s'agirait notamment d'élargir les indications de la recherche d'HPV HR pour inclure : le dépistage primaire en association ou non au FCU, le ratrappage des femmes réticentes au FCU dans le cadre du dépistage organisé, la prise en charge des CIN (*Cervical Intraepithelial Neoplasia*) de type 1 et le suivi post-thérapeutique des CIN de type 2 et 3.

Le Plan cancer 2014-2019 propose en effet la mise en place, au niveau national, d'un dépistage organisé du CCU (invitation par courrier à réaliser un FCU). En cas de non-réponse à l'invitation, il recommande d'effectuer une recherche d'HPV HR par auto-prélèvement. Il s'agit de proposer une alternative aux femmes réticentes à la réalisation du FCU et ainsi d'étendre la couverture du dépistage.

En vue de la généralisation de ce dépistage organisé, des études proposant l'auto-prélèvement comme alternative au FCU ont été menées en France depuis quelques années. Le Maine-et-Loire fait partie des départements pilotes concernés par ces études. Une première campagne de dépistage CapU1, proposant la recherche d'HPV HR dans les urines comme alternative au FCU, a été lancée en 2012. Elle a été suivie d'une deuxième campagne de dépistage CapU2, initiée en 2014, afin de confirmer l'adhésion des femmes à l'auto-prélèvement urinaire et de leur assurer un suivi virologique et gynécologique.

GÉNÉRALITÉS

1. Structure du virus

Les papillomavirus sont de petits virus à ADN de la famille des *papillomaviridae*. Ils sont ubiquitaires et infectent aussi bien l'homme que l'animal, avec une spécificité d'espèce étroite. Chez l'homme, on parle de *Human Papillomavirus* ou HPV.

Il s'agit de virus nus de petite taille. Ils possèdent une capsid icosaédrique d'environ 55 nm de diamètre, constituée de 72 capsomères (assemblage de différentes protéines). Leur génome est constitué d'un ADN bicaténaire circulaire d'environ 8 000 paires de bases, avec un seul brin codant et trois régions génomiques distinctes (1),(2) (Figure 1) :

- une région précoce E (*Early*) codant pour des protéines non structurales (E1, E2, E4, E5, E6 et E7) ;
- une région tardive L (*Late*) codant pour les protéines structurales (L1, L2) composant la capsid ;
- et une région régulatrice LCR (*Long Control Region*) ou URR (*Upstream Regulatory Region*), comportant des sites de fixation pour de nombreux facteurs de transcription cellulaire ainsi que pour certaines des protéines précoce régulant la réplication virale.

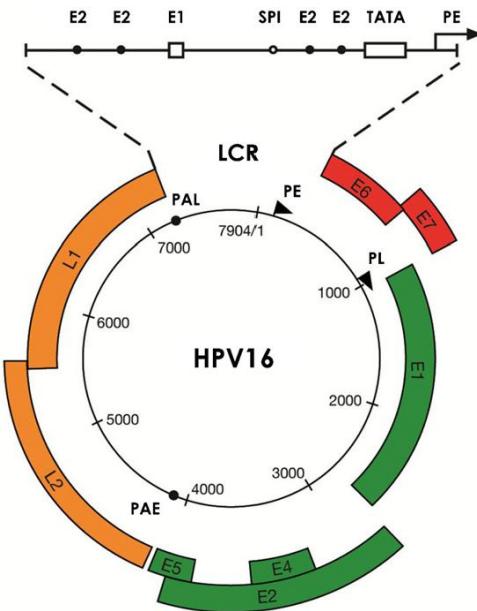


Figure 1 : Génome du virus (2)

Ces protéines virales ont des fonctions différentes (1),(2) :

- la protéine majeure de capsid L1, comme son nom l'indique, est le constituant principal de la capsid. Elle porte à sa surface des antigènes cibles des anticorps neutralisants et possède la capacité de s'auto-assembler en pseudo-particules virales ou VLP (*Virus Like Particles*).

Ces propriétés sont utilisées dans l'élaboration des vaccins.

- la protéine mineure de capsid L2 est associée à L1. Présente en moins grande quantité et plus interne dans sa localisation au niveau de la capsid, elle est liée à l'ADN viral.

- les protéines précoces E1 (hélicase) et E2 sont impliquées dans la réplication virale. E2 joue également un rôle dans la régulation de la transcription et donc de la réplication, en exerçant un contrôle négatif sur E6 et E7.

- les protéines précoces E4 et E5 interviennent dans l'amplification du génome viral de manière indirecte, par modification du cytosquelette régissant le trafic intracellulaire. E4, d'expression plus tardive, participe aussi à la maturation virale. E5 jouerait également un rôle dans l'échappement à la réponse immunitaire et dans la transformation.

- les protéines précoces E6 et E7 sont impliquées dans la prolifération (entrée en phase S du cycle cellulaire) et la transformation cellulaire (inhibition de l'apoptose, échappement à la réponse immunitaire, immortalisation).

2. Classification des HPV

À l'heure actuelle, environ 170 génotypes d'HPV ont été caractérisés. Une classification a été établie en se basant sur l'analyse de la séquence nucléotidique du gène codant pour la protéine majeure de capside L1 (région la plus conservée du génome des HPV).

Les HPV sont répartis en cinq genres (alpha, beta, gamma, mu et nu), qui présentent entre eux un degré d'homologie de la séquence L1 inférieur à 60 %. À l'intérieur de chacun des genres, les HPV sont répartis en espèces (60 à 70 % d'homologie), elles-mêmes divisées en types (71 à 89 % d'homologie), puis sous-types (90 à 98 % d'homologie) et enfin variants (> 98 % d'homologie) (3) (Figures 2, 3).

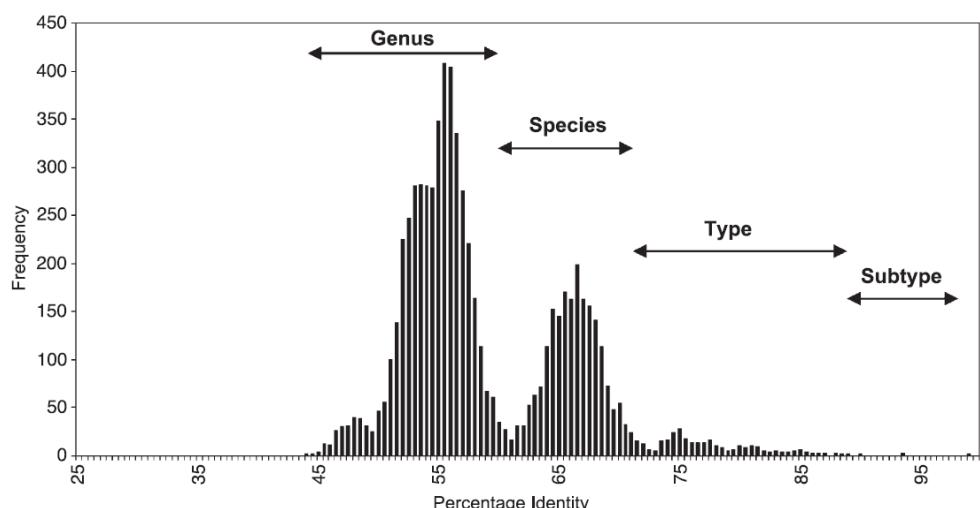


Figure 2 : Fréquence de distribution des génotypes d'HPV en fonction du pourcentage d'homologie de la séquence nucléotidique du gène codant L1 (3)

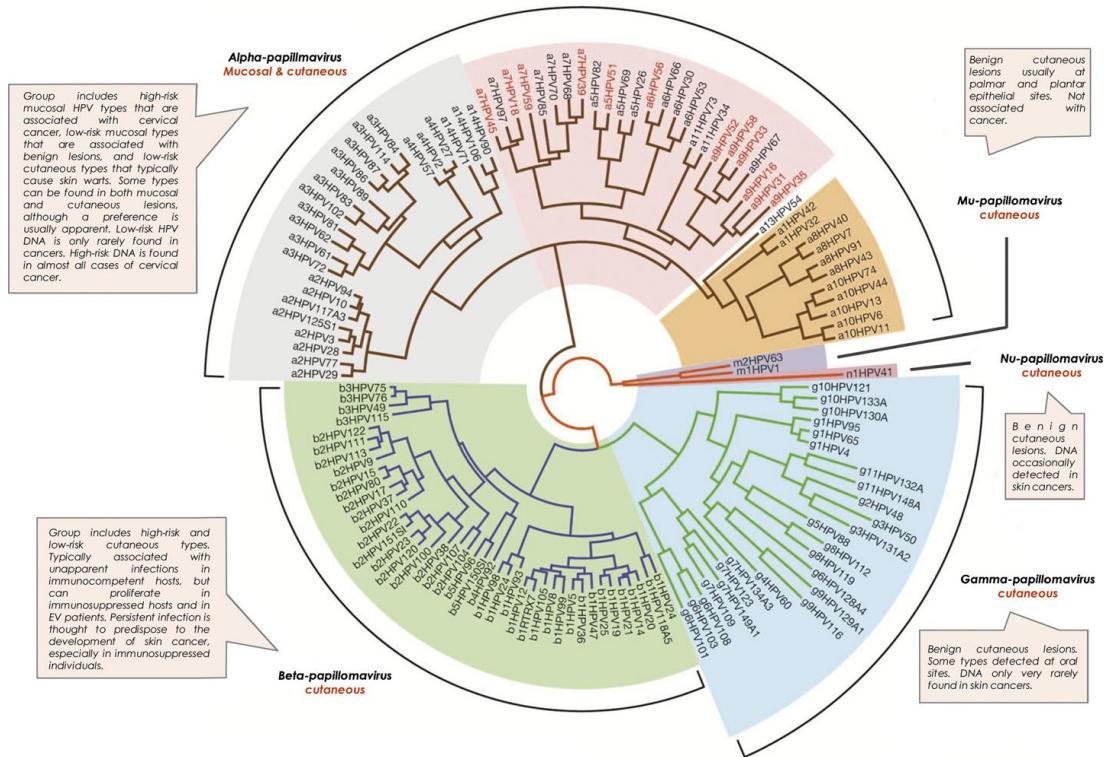


Figure 3 : Arbre phylogénétique des HPV (2)

Ils sont également classés en fonction de leur tropisme et de leur oncogénicité (Tableau I).

On distingue ainsi les HPV cutanés, responsables de lésions cutanées de type verrues, des HPV muqueux, atteignant les muqueuses ano-génitales ou oropharyngées. Les HPV muqueux sont divisés en HPV à haut risque (HPV HR), à risque intermédiaire ou à bas risque (HPV BR) oncogène (4),(5).

Tableau I : Classification des HPV en fonction de leur oncogénicité (4),(5)

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 EV)
3 (non classés pour leur potentiel oncogène)	6, 11	HPV des genres β (sauf 5 et 8) et gamma

3. Physiopathologie de l'infection à HPV

3.1. Tropisme cellulaire

Les HPV ont un tropisme pour les épithéliums malpighiens, et notamment les épithéliums malpighiens pavimenteux pluristratifiés qu'ils soient kératinisés (peau) ou non (muqueuses vaginale, du col de l'utérus (exocol), anale, buccale, œsophagienne et de cornée (face antérieure)).

3.2. Cycle viral (1),(2)

La survenue d'une infection à HPV s'accompagne de microlésions au niveau de l'épithélium malpighien pavimenteux pluristratifié, qui permettent aux particules virales infectantes d'atteindre les cellules de la lame basale constituant le réservoir de l'infection. Ces cellules sont accessibles directement au niveau de la zone de jonction entre épithélium malpighien de l'exocol et épithélium glandulaire de l'endocol par exemple, d'où une localisation préférentielle des infections à HPV à ce niveau (Figure 4).

L'entrée des virions dans les cellules de la lame basale se ferait via une interaction avec les héparanes sulfates et la laminine. Une fois internalisés, les virions sont pris en charge par l'endosome. Après décapsidation, le génome viral associé à la protéine mineure de capsidé L2 est transporté vers le noyau alors que la protéine majeure de capsidé L1 sera elle dégradée dans le lysosome.

Le cycle viral des HPV est lié à la différenciation cellulaire de l'épithélium. La réPLICATION du génome viral et son maintien ont lieu dans les cellules de la lame basale. Ces dernières vont ensuite se diviser, tout en se différenciant, puis progressivement migrer pour gagner la surface de l'épithélium. L'amplification du génome viral a lieu dans les cellules des couches intermédiaires. La production des protéines de capside et l'assemblage des particules virales se font uniquement dans les cellules des couches superficielles bien différencierées (Figure 4).

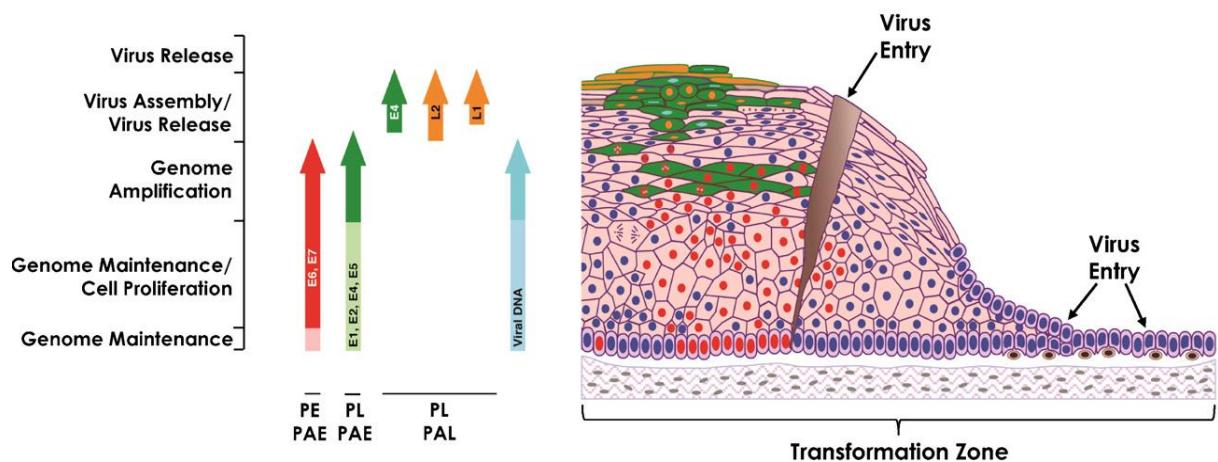


Figure 4 : Cycle viral des HPV (2)

3.3. Histoire naturelle de l'infection à HPV (1),(2)

3.3.1. Infection productive

L'entrée des virions dans les cellules de la lame basale est généralement suivie d'une phase initiale d'amplification du génome viral, puis du maintien de ce génome viral sous forme épisomale à un faible taux de copies (environ 50 à 200 copies par cellule). Ces premières étapes se font sous le contrôle des protéines précoces E1 et E2 et de certaines protéines cellulaires. Interviennent ensuite les protéines E6 et E7, qui jouent un rôle primordial dans la

prolifération cellulaire au niveau de la lame basale et des couches intermédiaires, en assurant le maintien en phase S du cycle cellulaire. Elles permettent l'amplification du génome viral, avec l'aide des autres protéines précoces (E1, E2 puis E4, E5). Une fois les cellules des couches superficielles bien différenciées (kératinocytes), les protéines de capside L1 et L2 peuvent s'exprimer, permettant alors l'assemblage des particules virales. Les virions néoformés sont libérés par les cellules qui desquamant à la surface de l'épithélium (Figure 5).

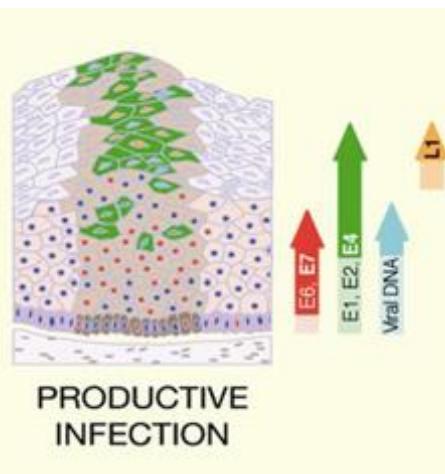


Figure 5 : Schéma d'une infection productive à HPV (2)

Ces dernières étapes sont responsables de l'apparition d'un effet cytopathogène caractéristique au niveau des kératinocytes de l'exocytose, et visible sur le frottis cervico-utérin (FCU) : cellules de grande taille, fréquemment binucléées, avec une vacuole péri-nucléaire repoussant le cytoplasme en périphérie (Figure 6). Ces cellules sont appelées des koïloctyes.

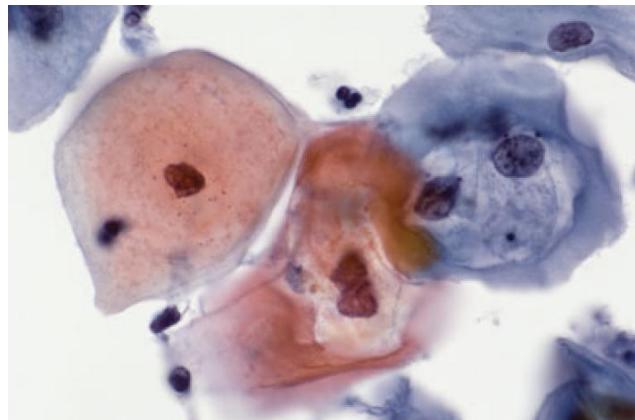


Figure 6 : Koilocytes (6)

3.3.2. Régression immunitaire

La régression de l'infection à HPV est en grande partie liée à une immunité cellulaire. Il s'agit d'une réponse cellulaire médiée par les lymphocytes T (réponse cytotoxique et réponse T helper intense) dirigée contre les protéines E1, E2, E6, E7 et L2 (Figure 7).

L'immunité humorale, elle, est médiée par des anticorps neutralisants dirigés essentiellement contre la protéine L1, mais aussi contre les protéines E2, E6, E7 et L2. Ils peuvent agir soit par transsudation, soit par exsudation au niveau de microlésions de l'épithélium infecté, et viennent bloquer les sites de fixation du virus. Comparée à la réponse cellulaire, cette réponse humorale est faible. Les taux d'anticorps circulants sont peu élevés (Figure 7).

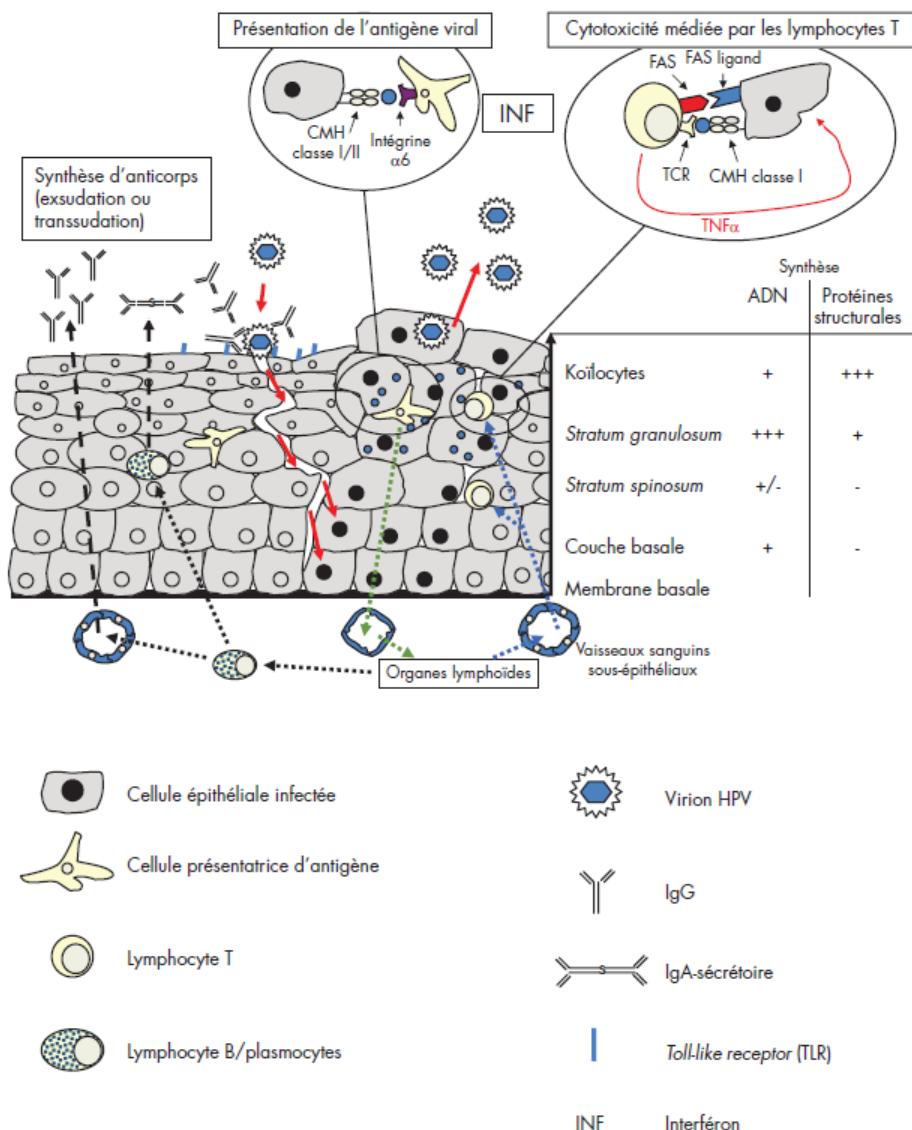


Figure 7 : Réponse immunitaire déclenchée par une infection à HPV (1)

3.3.3. Clairance virale/Latence virale

Dans la majorité des cas (80 à 90 %), l'infection productive à HPV régresse sous l'effet de la réponse immunitaire et ne persiste pas assez longtemps pour entraîner une dérégulation du cycle cellulaire et une accumulation d'anomalies génétiques. Ce phénomène s'appelle la clairance virale. Elle s'observe en 3 à 6 mois pour les HPV BR et en 12 à 18 mois pour les HPV HR.

Dans certains cas, la régression de l'infection à HPV peut ne pas aller jusqu'à la clairance virale. L'ADN viral persiste alors dans les cellules de la lame basale sans se répliquer, ni s'intégrer au génome cellulaire. L'infection devient « silencieuse », on parle de latence virale. Il existe cependant un risque de réactivation à distance, en cas de modification de l'immunité, notamment cellulaire (infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), traitements immunosupresseurs).

3.3.4. Infection persistante et transformation

Parfois, l'infection à HPV persiste et entraîne alors l'apparition de lésions intra-épithéliales de bas grade puis de haut grade, pouvant aller jusqu'au cancer (Figure 8).

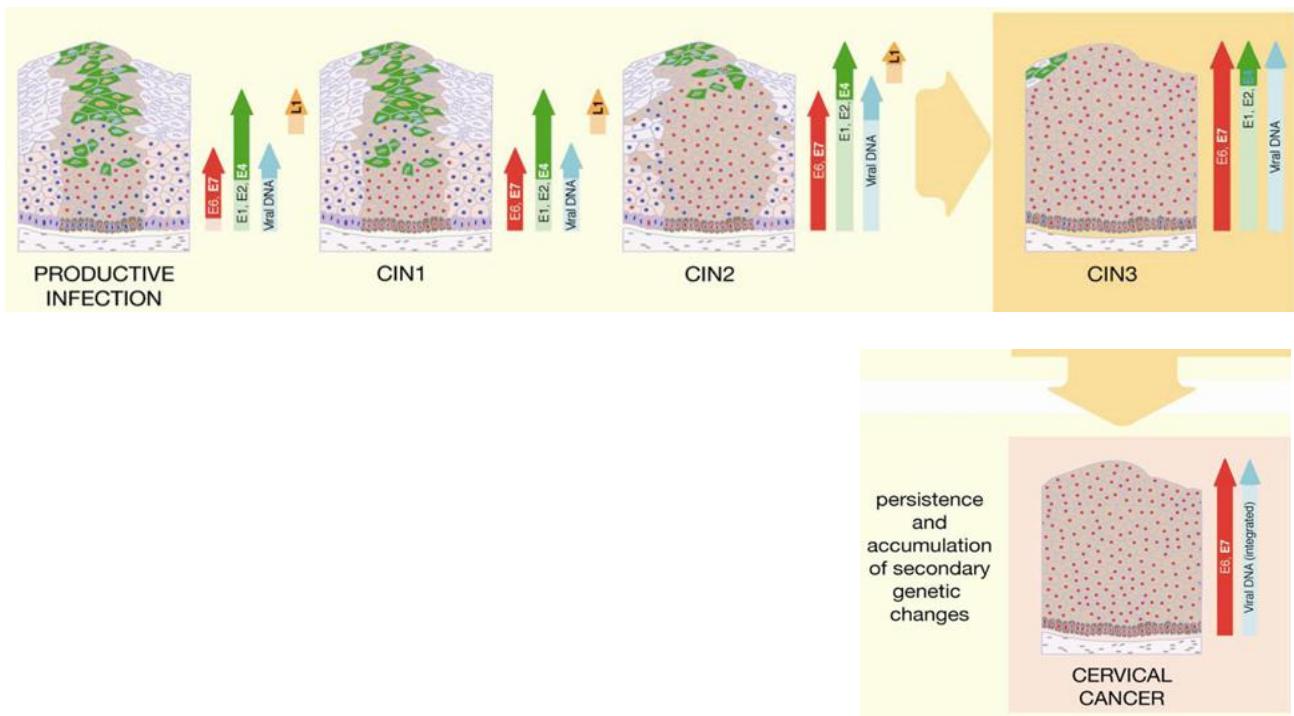


Figure 8 : De l'infection productive au cancer (2)

Un certain nombre de facteurs, propres au virus (génotype, charge virale) et à l'hôte (statut immunitaire, tabac, contraception orale, conduites sexuelles), influent sur la persistance virale. L'échappement à la réponse immunitaire est l'un des principaux facteurs. Comme énoncé précédemment, en cas d'infection à HPV, il existe une réponse immunitaire essentiellement cellulaire. Bien qu'à l'origine d'une régression de l'infection dans la majorité des cas, cette réponse immunitaire reste peu efficace. Le cycle cellulaire se déroule exclusivement en intra-épithérial. Il n'y pas de virémie, pas de cytolysé ou d'apoptose viro-induite, pas de relargage de cytokines pro-inflammatoires permettant le recrutement des cellules de l'immunité innée. Les kératinocytes sont de mauvaises cellules présentatrices d'antigènes. Les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques sont peu nombreuses au niveau des épithéliums malpighiens. Les protéines virales contribuent elles aussi à l'inefficacité de la réponse immunitaire : les protéines E6 et E7 diminuent l'expression de récepteurs de surface et inhibent le système interféron ; quant à la protéine E5, elle diminue la présentation des antigènes viraux par les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II. L'ensemble de ces éléments font que la réponse immunitaire mise en place est finalement modérée et retardée, ce qui favorise la persistance de l'infection à HPV.

L'infection persistante à HPV, et notamment à HPV HR, est un facteur nécessaire au développement du CCU. Les protéines E6 et E7 des HPV HR jouent un rôle essentiel dans l'oncogenèse, une augmentation de l'expression de ces protéines ayant été observée dans les cellules de la lame basale des épithéliums infectés avec lésions précancéreuses ou cancéreuses. Les mécanismes à l'origine de cette dérégulation ne sont pas complètement élucidés à l'heure actuelle, mais l'intégration du génome viral en fait partie. Dans les lésions de bas grade, l'ADN viral est sous forme épisomale. Dans les lésions de haut grade et les

cancers, il y a fréquemment intégration du génome viral au génome cellulaire. Cette intégration peut s'accompagner d'une interruption de la séquence codant pour la protéine E2, et donc d'une perte d'expression de la protéine E2, qui régule la réplication cellulaire par répression de la transcription des protéines E6 et E7. Cela favorise par conséquent la surexpression des protéines E6 et E7, qui interagissent avec de nombreuses protéines cellulaires (p53, PRb). Cette surexpression va entraîner le dérèglement de voies de signalisation et de régulation cellulaires, favorisant la survie et la prolifération cellulaires (inhibition de l'apoptose), l'instabilité génétique et l'échappement à la réponse immunitaire. L'ensemble de ces phénomènes constitue le point de départ du processus cancéreux.

4. Épidémiologie et manifestations cliniques des infections à HPV (4)

Les HPV sont des virus ubiquitaires, les infections à HPV sont donc fréquentes. La transmission peut se faire de manière directe, par contact cutanéo-muqueux, ou indirecte, par le biais d'objets ou de surfaces contaminés (les HPV étant des virus nus, ils résistent dans le milieu extérieur).

Ils peuvent être responsables de la survenue de cancers épithéliaux (7),(8) :

- 100 % des CCU ;
- 85 % des cancers anaux ;
- 70 % des cancers vaginaux ;
- 50 % des cancers péniens ;
- 40 % des cancers vulvaires ;
- 25 % des cancers oropharyngés

4.1. Peau

Les HPV cutanés sont responsables d'infections cutanées sans lésion apparente chez 40 % de la population immunocompétente.

Ils peuvent cependant induire des lésions cutanées :

- des verrues cutanées, d'aspect et de localisation variables en fonction du génotype impliqué ;
- l'épidermodysplasie verruciforme : une maladie rare, d'origine génétique (les gènes impliqués étant EVER1 et EVER2), se manifestant par des lésions maculo-papuleuses squameuses susceptibles d'évoluer vers des lésions cancéreuses sous l'action des rayonnements ultra-violets.

4.2. Muqueuse des VADS

Les HPV muqueux sont responsables d'infections oropharyngées sans lésion apparente chez 4,5 % de la population.

Ils peuvent cependant induire des lésions :

- des papillomes, notamment au niveau laryngé : la papillomatose laryngée juvénile, survenant suite à la transmission d'HPV BR de la mère à l'enfant lors de l'accouchement, récidivante et pouvant être associée à une détresse respiratoire ;
- des cancers des VADS associés aux HPV : des cancers oropharyngés (notamment tonsillaires), à nette prédominance masculine, avec pour facteur de risque principal le comportement sexuel, et majoritairement liés à une infection à HPV 16 (dans 85 à 95 % des

cas). Les cancers oropharyngés associés aux HPV sont de meilleur pronostic que ceux qui ne sont pas associés aux HPV (9).

4.3. Muqueuse ano-génitale

Les infections ano-génitales à HPV muqueux correspondent à la plus fréquente des infections sexuellement transmissibles (IST). La transmission est donc le plus souvent sexuelle, mais peut aussi se faire de manière indirecte. Les infections multiples (y compris les co-infections HPV HR – HPV BR) sont fréquentes. La prévalence des infections à HPV au niveau des muqueuses ano-génitales (tous types de lésions confondus, mais notamment le CCU et le cancer de l'anus) est supérieure chez les patients immunodéprimés (VIH+).

Les HPV muqueux, au niveau des muqueuses ano-génitales, peuvent être à l'origine de différents types de lésions :

- des condylomes acuminés ou verrues génitales : des lésions cutanéo-muqueuses bénignes, fréquentes, récidivantes, liées à des HPV BR (HPV 6, HPV 11) dans 90 % des cas ;
- des lésions bénignes, précancéreuses et cancéreuses de l'anus, de la vulve, du vagin et du pénis ;
- des lésions du col de l'utérus.

Les infections du col de l'utérus à HPV sont très fréquentes et sont contractées très tôt après les premiers rapports sexuels. La prévalence varie en fonction de la démographie de la population (âge, localisation géographique) mais est en moyenne de 12 % (8). Il existe un premier pic de prévalence avant 25 ans, puis un deuxième pic plus modéré après 50 ans (10). La majorité des infections du col de l'utérus à HPV sont spontanément résolutives (90

% à trois ans), seules 10 % persistent et risquent d'évoluer vers un cancer, surtout si elles sont liées à un HPV HR (HPV 16) (11).

Les infections du col de l'utérus à HPV se développent au niveau de la jonction exocol-endocol. Elles peuvent être asymptomatiques sur le plan cytologique mais peuvent aussi entraîner des anomalies cytologiques, au niveau de la muqueuse épithéliale ou glandulaire, détectées au FCU (Tableau II).

Tableau II : Classification des anomalies cytologiques observées au FCU (12)

Lésions malpighiennes	
ASC-US	Atypies des cellules épidermoïdes de signification indéterminée
ASC-H	Atypies des cellules épidermoïdes ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade
LSIL	Lésion intra-épithéliale épidermoïde de bas grade
HSIL	Lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade
Carcinome épidermoïde ou malpighien	
Lésions glandulaires	
AGC	Atypies des cellules glandulaires
AIS	Adénocarcinome endocervical <i>in situ</i>
Adénocarcinome invasif	

Sur le plan histologique, les lésions provoquées par l'infection sont qualifiées de *Cervical Intraepithelial Neoplasia*, ou CIN, et classées en fonction de leur degré de sévérité :

- CIN 1 = dysplasie légère ;
- CIN 2 = dysplasie modérée ;
- CIN 3 = dysplasie sévère ;
- carcinome *in situ* (CIS).

Les CIN 2 et 3 sont considérées comme des lésions précancéreuses. Plus le grade de la lésion est élevé, plus la proportion d'HPV HR impliqués augmente, mais l'HPV 16 reste le génotype le plus fréquent quel que soit le grade de la lésion. L'ensemble des lésions de type CIN ont la possibilité de régresser spontanément, même si la probabilité de régression diminue avec la présence d'HPV HR (HPV 16, HPV 18), l'augmentation du grade de la lésion et l'augmentation de l'âge de la femme (13).

Dans le monde, le CCU est le 2^{ème} cancer le plus fréquent chez la femme. En France, il s'agit du 11^{ème} cancer le plus fréquent chez la femme avec environ 3 028 nouveaux cas par an. En termes de mortalité, il se situe au 12^{ème} rang avec environ 1 102 décès par an. L'analyse des tendances en France montre une diminution de l'incidence et de la mortalité entre 1980 et 2012, avec un taux moyen de décroissance de, respectivement, 2,5 % et 3,2 % (14) (Figure 9).

Le CCU est un cancer viro-induit. 100 % des cas sont liés aux HPV HR, dont 70 % aux HPV 16 et 18 (50 % aux HPV 16). Dans 90 % des cas, il s'agit de carcinomes épidermoïdes. C'est un cancer de la quarantaine, survenant en moyenne 15 à 20 ans après l'infection.

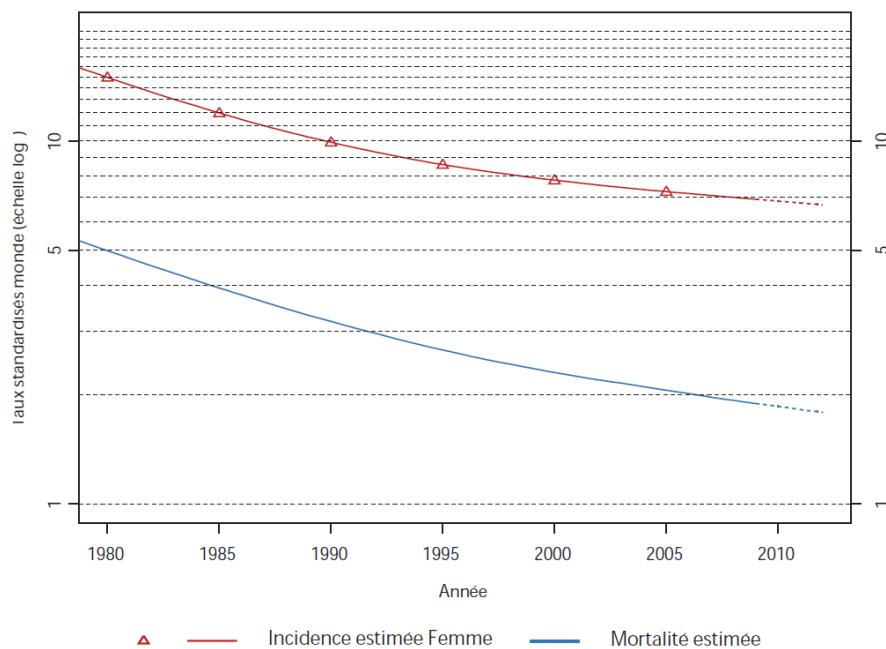


Figure 9 : Évolution de l'incidence et de la mortalité des infections à HPV en France entre 1980 et 2012 (15)

5. Diagnostic virologique (4)

À l'heure actuelle, le diagnostic virologique des infections à HPV s'inscrit dans le cadre du dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus. La seule indication qui bénéficie d'un remboursement par l'assurance maladie est le FCU avec anomalies cytologiques de signification indéterminée, ou ASC-US (*Atypical Squamous Cells of Unknown Significance*).

Le diagnostic par culture cellulaire n'est pas possible, les HPV n'étant pas cultivables par les techniques de culture classique. Le diagnostic sérologique n'est pas indiqué, du fait d'une apparition tardive et inconstante des anticorps et de l'absence de titre protecteur dans le cadre de la vaccination. Il n'y a d'ailleurs pas de test commercialisé à ce jour.

Le diagnostic virologique des infections à HPV est donc un diagnostic moléculaire. Actuellement, il existe entre 150 et 200 tests HPV commercialisés au niveau mondial. Certains permettent la détection d'HPV HR sans génotypage, d'autres permettent le génotypage partiel de certains HPV HR, notamment HPV 16 et 18, ou le génotypage plus large d'HPV HR et BR. De nombreuses trusses possèdent le marquage CE/IVD (Conforme aux exigences Européennes/*In Vitro Diagnostic*) mais toutes non pas été validées cliniquement (sensibilité et spécificité dans la détection des lésions de haut grade) (16).

5.1. Techniques d'amplification du signal

Il s'agit de techniques d'hybridation en phase liquide, utilisant des sondes ARN ou ADN s'hybridant avec l'ADN viral. Ces techniques permettent la détection d'HPV HR sans génotypage. Elles ont été validées cliniquement :

- Hybrid Capture 2 High-Risk HPV DNA Test® (Qiagen) : sondes ARN spécifiques de 13 HPV HR (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68), formation d'hybrides et détection par chimioluminescence
- Cervista® HPV HR (Hologic) : sondes ADN spécifiques de 14 HPV HR (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68), formation d'hybrides et détection par fluorescence

5.2. Techniques d'amplification de la cible

5.2.1. Amplification de l'ADN viral

Il s'agit de techniques de PCR en point final ou de PCR en temps réel (PCR TR), utilisant des amorces consensuelles ou multiplexes, ainsi que des sondes spécifiques s'hybridant avec l'ADN viral. Ces techniques permettent le génotypage partiel de certains HPV HR et parfois de certains HPV BR.

Deux des trousse les plus utilisées, et qui ont été validées cliniquement, s'appuient sur des techniques de PCR TR multiplexes, permettant la détection de 14 HPV HR avec génotypage des HPV 16 et 18 :

- RealTime High Risk HPV (Abbott)
- Cobas® HPV test (Roche)

Récemment, un test HPV unitaire reposant sur une technique de PCR TR réalisable en une heure a obtenu le marquage CE/IVD. Il permet la détection de 14 HPVR HR avec génotypage des HPV 16 et 18/45 :

- Xpert® HPV, GeneXpert (Cepheid)

D'autres trousse permettent un génotypage plus large d'HPV HR et BR, mais elles n'ont pas été cliniquement validées :

- Anyplex™ II HPV28 Detection (Seegene)

5.2.2. Amplification de l'ARN messager (ARNm) viral

Il s'agit d'une technique basée sur la détection, après amplification, des ARNm des protéines précoces E6 et E7 des HPV impliquées dans l'oncogenèse. Elle permet la détection de 14 HPV HR sans génotypage et a l'avantage d'être le reflet de l'activité transcriptionnelle du virus. Ce test est validé cliniquement :

- APTIMA® HPV assay (Hologic)

6. Prévention des infections à HPV

Bien que les infections à HPV soient des IST, les méthodes de protection classiques, telles que les préservatifs, ne sont pas suffisantes pour prévenir leur survenue.

6.1. Prévention primaire : la vaccination

La vaccination prophylactique anti-HPV a pour but d'éviter les infections à HPV 16 et 18 plus ou moins 6 et 11. L'enjeu est de diminuer l'incidence des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus, mais aussi de diminuer l'incidence des autres pathologies liées à ces quatre génotypes (cancers d'autre localisation, condylomes acuminés).

Les HPV n'étant pas cultivables par les techniques de culture classique, l'utilisation de virus vivants atténués ou inactivés n'était pas envisageable pour l'élaboration d'un vaccin. La vaccination repose ainsi sur l'utilisation de VLP (17). La protéine majeure de capsid L1 des HPV est produite dans des levures ou des baculovirus. Elle est alors capable de s'auto-

assembler en capsomères constitués de cinq protéines L1 chacun, ces capsomères étant à leur tour capables de s'auto-assembler en VLP. Ces VLP sont non infectieuses puisqu'elles sont dépourvues d'ADN viral. Une fois administrées dans l'organisme, elles vont induire la production d'anticorps neutralisants dirigés contre des épitopes de la protéine L1. En cas d'infection, les anticorps anti-L1 gagneront l'épithélium infecté par transsudation à partir du plasma, afin de neutraliser les particules virales infectieuses présentes à ce niveau (Figure 10).

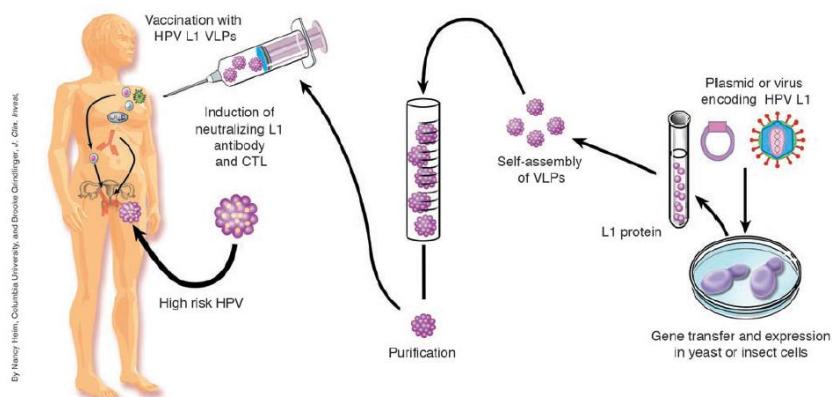


Figure 10 : Principe de l'élaboration des vaccins anti-HPV (18)

À l'heure actuelle, en France, deux vaccins ont obtenu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) :

- GARDASIL® (Merck-Sanofi-Pasteur) : produit à partir de levures, il s'agit d'un vaccin quadrivalent dirigé contre les génotypes 16, 18, 6 et 11, avec un schéma d'administration intramusculaire en trois doses (0, 2 et 6 mois) ;
- CERVARIX® (GlaxoSmithKline) : produit à partir de baculovirus, il s'agit d'un vaccin bivalent dirigé contre les génotypes 16 et 18, avec un schéma d'administration intramusculaire en trois doses (0, 1 et 6 mois).

Selon les recommandations initiales du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) en 2007, la vaccination prophylactique anti-HPV s'adressait aux jeunes filles de 14 ans, avec un rattrapage possible de 15 à 23 ans pour celles n'ayant pas eu de rapports sexuels ou, au plus tard, dans l'année suivant le début de leur vie sexuelle. En septembre 2012, compte tenu de l'évolution des données concernant les vaccins et avec un recul de quelques années sur la couverture vaccinale, le HCSP a émis un avis révisant l'âge de la vaccination anti-HPV, rappelant que celle-ci est d'autant plus efficace que les jeunes filles n'ont pas encore été exposées au risque d'infection à HPV. La vaccination s'adresse donc désormais aux jeunes filles âgées de 11 à 14 ans, avec un rattrapage possible jusqu'à 20 ans (19 ans révolus) (19).

Concernant le schéma vaccinal, le HCSP a également modifié ses recommandations. Ainsi, depuis fin 2013 pour CERVARIX® et début 2014 pour GARDASIL®, un schéma à deux doses espacées de 6 mois est recommandé pour les jeunes filles de 11 à 14 ans, le schéma à trois doses étant lui maintenu pour le rattrapage des jeunes filles de 15 à 19 ans révolus (20),(21).

Selon les dernières évaluations, la couverture vaccinale en France connaît une inflexion depuis 2010-2011. Elle est aujourd'hui inférieure à 30 %. Ce phénomène peut s'expliquer par la difficulté d'aborder les problématiques liées à la sexualité avec les jeunes filles, par la crainte de survenue d'effets secondaires suite à la vaccination ou encore par le coût restant à charge après remboursement (19).

Le Plan cancer 2014-2019 a comme objectif de favoriser des diagnostics plus précoces. Concernant le CCU, son but est de faire reculer les inégalités face à ce cancer et de réduire

son incidence. Cela passe par une amélioration de la couverture vaccinale anti-HPV (action 1.2) : le Plan cancer prévoit ainsi de renforcer la mobilisation des professionnels de santé et de faciliter l'accès à cette vaccination pour les jeunes filles concernées (notamment via la gratuité). Entre 2014 et 2019, les objectifs sont de doubler le taux de couverture vaccinale en France, afin qu'il atteigne au moins 60 % en 2019, et d'évaluer l'acceptabilité d'une vaccination en milieu scolaire, certains pays ayant atteint une couverture vaccinale de 80 % grâce à cette vaccination systématique. Les moyens prévus afin de remplir ces objectifs sont les suivants (Figure 11) :

- ▶ Renforcer la communication vers les jeunes filles et les parents sur l'enjeu de la vaccination et son rapport bénéfices/risques, en mobilisant les relais locaux associatifs, les collectivités territoriales et les services de santé scolaire.
- ▶ Introduire dans les rémunérations sur objectifs de santé publique des médecins traitants un indicateur de progrès de la vaccination anti-HPV, en complément de l'indicateur existant pour le frottis du col de l'utérus.
- ▶ Promouvoir la diversification des structures de vaccination dont certaines permettent un accès gratuit à la vaccination : centres de vaccination, centres d'examens de santé, centres de dépistage anonyme et gratuit (CDAG), centres d'information, de dépistage et de diagnostic des infections sexuellement transmissibles (CIDDIST), maisons de santé pluridisciplinaires...
- ▶ Autoriser la vaccination par les infirmier(e)s diplômé(e)s d'État.
- ▶ Promouvoir des études en sciences humaines et sociales et en épidémiologie descriptive sur l'acceptabilité de la vaccination en milieu scolaire pour les jeunes filles de 11 à 14 ans.

Figure 11 : Action 1.2. du Plan cancer 2014-2019 (22)

De par sa mise en place récente et son faible taux de couverture, la vaccination ne protège pas la majorité des femmes actuellement concernées par le risque de CCU. Elle ne doit en aucun cas se substituer au dépistage par FCU mais plutôt s'y associer.

6.2. Prévention secondaire : le dépistage

6.2.1. Dépistage individuel

À l'heure actuelle, en France, le dépistage du CCU est un dépistage individuel volontaire et spontané. Sa mise en place dans les années 1960 a permis de réduire de manière significative l'incidence et la mortalité liées au CCU. Ce dépistage repose sur le FCU (23).

Selon la HAS, il est recommandé de réaliser un FCU chez les femmes âgées de 25 à 65 ans, tous les trois ans, après deux FCU normaux réalisés à un an d'intervalle. Ce frottis (conventionnel ou en milieu liquide) peut être réalisé par un médecin généraliste, un gynécologue ou une sage-femme. L'interprétation du FCU par un anatomo-pathologiste se base sur le système de Bethesda 2001 :

- caractère interprétable du frottis ;
- description des éventuelles anomalies de l'épithélium malpighien et/ou glandulaire constatées ;
- recommandations et précisions.

Un FCU est considéré comme anormal si, au niveau de l'épithélium malpighien, sont retrouvées des lésions de type ASC-US ou plus sévères, et si, au niveau de l'épithélium glandulaire, sont retrouvées des anomalies de type AGC (*Atypical Glandular Cells*) ou plus sévères.

Il existe une correspondance entre classification cytologique (FCU) et histologique (biopsie) :

- lésions de type LSIL (*Low grade Squamous Intraepithelial Lesion*) = CIN1 ;
- lésions de type HSIL (*High grade Squamous Intraepithelial Lesion*) = CIN2/CIN3.

En 2002, l'Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé (ANAES), qui n'existe plus en tant que telle aujourd'hui mais fait partie de la HAS, a émis des recommandations sur la conduite à tenir face à un FCU pathologique (24) :

- en cas de FCU avec anomalies de type ASC-US, il existe plusieurs alternatives : soit colposcopie avec biopsie d'emblée, soit FCU de contrôle à 6 mois, soit recherche de HPV HR par biologie moléculaire (Figure 12) ;
- en cas de FCU avec anomalies de type ASC-H (*Atypical Squamous Cells – cannot exclude High grade squamous intraepithelial lesion*), une colposcopie avec biopsie est préconisée d'emblée ;
- en cas de FCU avec anomalies de types LSIL, il existe là aussi plusieurs alternatives : soit colposcopie avec biopsie d'emblée, soit FCU de contrôle à 4-6 mois ;
- en cas de FCU avec anomalies de type HSIL, une colposcopie avec biopsie est préconisée d'emblée ;
- en cas de FCU avec anomalies glandulaires (quelles qu'elles soient), une colposcopie avec biopsie est préconisée d'emblée.

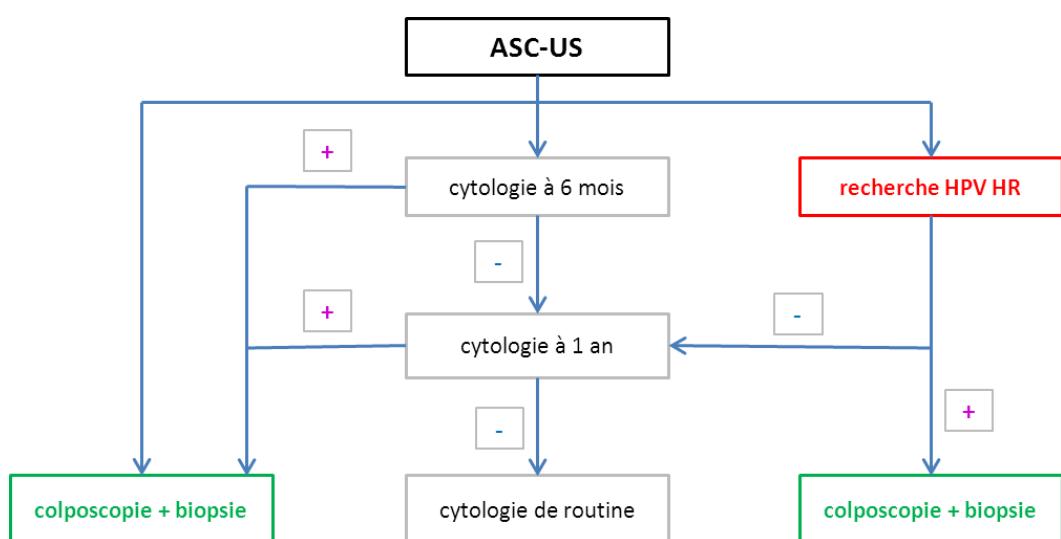


Figure 12 : Conduite à tenir en cas de FCU avec anomalies de type ASC-US (24)

L'efficacité du dépistage par FCU se traduit par une augmentation de l'incidence des lésions précancéreuses et par une diminution de l'incidence des cancers invasifs (25) (Figure 13).

Malgré cette efficacité indéniable, la couverture du dépistage du CCU en France reste insuffisante : elle est en moyenne de 60 %, avec de grandes disparités selon les départements, l'âge ou la situation sociale des femmes. La majorité des cancers sont détectés chez des femmes n'ayant pas ou peu recours au dépistage individuel. Une organisation de ce dépistage au niveau national pourrait constituer une solution.

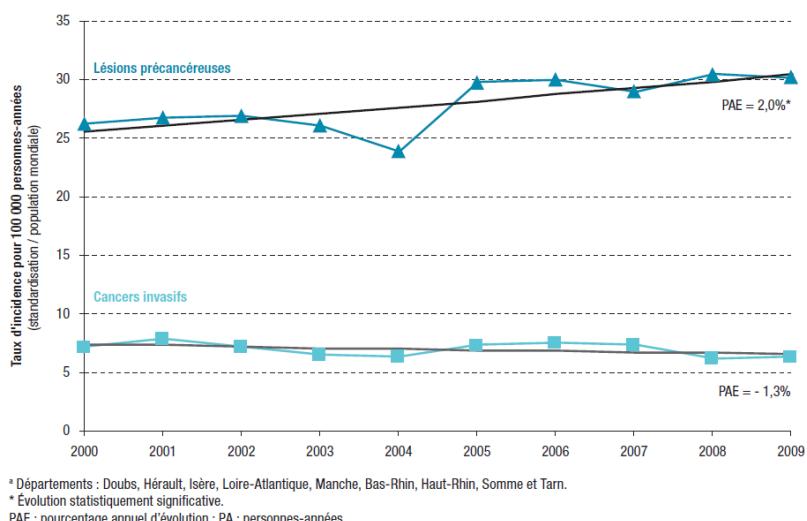


Figure 13 : Taux d'incidence standardisés des lésions précancéreuses et des cancers invasifs du col de l'utérus en France entre 2000 et 2009 (25)

6.2.2. Dépistage organisé

Bien qu'existant depuis de nombreuses années dans certains pays, le dépistage organisé est officiellement soutenu par les instances européennes depuis la publication en 2003 de recommandations du Conseil de l'Union européenne (UE), avec un objectif de couverture du dépistage de 80 % (26).

En Europe, 14 pays possèdent aujourd’hui un programme national de dépistage organisé dont 7 avec un programme de plus de 20 ans d’ancienneté (essentiellement des pays de l’Europe du Nord : Danemark, Finlande, Islande, Norvège, Pays-Bas, Royaume-Uni et Suède) (Tableau III).

Sept pays développent des programmes régionaux touchant de 4 à 72 % de la population cible (les femmes de 25 à 65 ans) selon le pays. Il s’agit en majorité de pays de l’Europe du Sud, dont la France. Enfin, 11 pays possèdent seulement un dépistage individuel. Dans l’ensemble de ces pays, le test de dépistage de référence est le FCU. Les Pays-Bas et la Finlande envisagent d’avoir recours à la détection des HPV HR en dépistage primaire chez les femmes à partir de 35 ans. Ces mesures n’ont pas encore été mises en place. Les taux de couverture du dépistage du CCU atteignant 70 à 80 % dans les pays possédant depuis longtemps un programme national de dépistage organisé, une tendance à la généralisation du dépistage organisé s’observe en Europe.

Tableau III : Programmes nationaux de dépistage organisé en Europe (26)

Pays	Incidence ^a	Niveau d’organisation ^b	Années de démarrage ^c	Tranche d’âge en années (protocole en cours)	Intervalle en années (protocole en cours)	Taux de couverture	Prise en charge financière	Préleveurs
Danemark	10,6	Régional	1962*/1996/2007	23-65	3 (5 après 50 ans)	69%	Totale	Médecins généralistes
Estonie	19,9	National	2003*/2006	30-59	5	13%	NC ^d	Sages-femmes
Finlande	4,3	National	1963	30-60	5	71%	Totale	Sages-femmes
Hongrie	18,0	Régional	2004	25-64	3	30%	NC	Gynécologues
Irlande	13,6	National	2000*/2008	25-60	3 (5 après 45 ans)	65%	NC	Médecins généralistes
Islande	7,9	National	1964	20-69		80%	Partielle	NC
Lithuanie	26,1	National	1993/2008	25-60	3	53%	Totale	Médecins généralistes
Norvège	9,8	Régional	1959/1992	25-69	3	75%	Totale depuis 2005	NC
Pays-Bas	6,8	National	1980/1996	30-60	5	77%	Totale	Médecins généralistes
Pologne	12,2	Régional	2007/2009	25-59	3	24%	Totale	Gynécologues
Royaume-Uni	7,1	Régional	1964*/1988/2003	25-64	3 (5 après 50 ans)	79%	Totale	Médecins généralistes
Slovénie	10,5	National	2003	20-64	3	68%	NC	Gynécologues
Serbie	23,8	National	2008	25-69	3	20%	NC	Gynécologues
Suède	7,4	Régional	1967*/1977	23-60	3 (5 après 51 ans)	79%	Variable	Sages-femmes

^a Taux standardisé pour la population mondiale, taux pour 100 000 femmes. Source : Globocan 2012 <http://globocan.iarc.fr>

^b Définit le niveau de pilotage et d’organisation, soit centralisé pour tout le pays, soit piloté à une échelle régionale.

^c Sont indiquées l’année de premier démarrage du programme de DO, puis l’année de la nationalisation du programme, enfin l’année de la dernière modification de protocole.

^d NC : Non communiqué.

^e Régional seulement.

En France, des programmes de dépistage organisé sont mis en place depuis le début des années 1990 dans cinq départements (Bas-Rhin, Haut-Rhin, Isère, Martinique et Doubs), le Doubs ayant stoppé son programme en 2007 (27).

En 2010, la Direction générale de la santé (DGS), en association avec l’Institut national du cancer (INCa), lance une expérimentation de dépistage organisé dans 13 départements, avec des modalités communes. L’organisation de ces études expérimentales est confiée à des structures de gestions locales : 3 pérennes (dans les 2 départements d’Alsace, en Isère et Martinique) et 6 pilotes (dans les 4 départements d’Auvergne, dans le Cher, l’Indre-et-Loire, le Maine-et-Loire, La Réunion et le Val-de-Marne). Ce programme expérimental de dépistage organisé repose sur l’incitation à réaliser un FCU pour les femmes de 25 à 65 ans qui n’en ont pas fait depuis plus de trois ans, avec relance dans les 9 à 12 mois suivant l’incitation si le dépistage n’a pas été réalisé (modèle mis en place en Alsace en 1994). Il consiste également à recueillir l’ensemble des résultats des femmes ayant réalisé un FCU, que ce soit dans le cadre du dépistage individuel ou du dépistage organisé. La population cible concernée par ce dépistage organisé représente 13,4 % de la population cible au niveau national, soit 2,37 millions de femmes, âgées de 25 à 65 ans et n’ayant pas réalisé de FCU depuis plus de trois ans.

Selon les premiers résultats, bien qu’aucun des 13 départements concernés par le dépistage organisé n’ait atteint les 80 % de couverture en l’espace de trois ans, les départements pérennes (Bas-Rhin, Haut-Rhin, Isère) dépassent les 70 %. Les départements expérimentaux, eux, ont des taux plus bas mais compris entre 51,3 et 64,6 %, avec un effet d’entraînement du système d’incitation/relance. Le taux de couverture du dépistage a augmenté de 13,2 points en moyenne en France en trois ans (Tableau IV).

Il s'agit d'un gain significatif dans la couverture du dépistage du CCU, témoignant d'un impact positif de ce programme de dépistage organisé.

Tableau IV : Taux de couverture vaccinale et de participation des programmes expérimentaux de dépistage organisé mis en place dans 13 départements en France (27)

Structure de gestion	Taux de couverture		Taux moyen de participation dans les 12 mois	
	Global (en %)	Part du DO (en points de %)	Par vague d'incitation (en %)	Par vague de relance (en %)
Alsace (2 départements)	72,5	ND ¹	14,4	ND ²
Isère	71,6	14,1	23,6	12,4
Martinique	41,0	11,9	12,5	11,1
Auvergne (4 départements)	54,5	11,0	17,5	11,3
Cher	51,3	24,0	10,6	9,5
Indre-et-Loire	62,7	22,7	18,8	13,6
Maine-et-Loire	64,7	10,4	19,7	12,8
La Réunion	59,1	15,5	21,4	-
Val-de-Marne	53,3	9,0	9,7	8,9

¹ND : non disponible en Alsace car 2010 a connu un changement de normes d'échanges entre l'assurance-maladie et la structure de gestion.

² ND : non disponible car certains items nécessaires à la construction de cet indicateur ne sont pas disponibles sur toute la période.

Face à ces résultats encourageants, et afin de favoriser des diagnostics plus précoces (objectif 1), le Plan cancer 2014-2019 prévoit une généralisation du dépistage organisé du CCU à l'échelle nationale. Il s'agit de lutter contre les inégalités d'accès et de recours au dépistage du CCU, en permettant à toutes les femmes âgées de 25 à 65 ans d'accéder à un dépistage régulier grâce au dispositif existant et avec l'aide des structures de gestion locales et des médecins traitants (action 1.1). L'objectif est d'atteindre un taux de couverture de dépistage de 80 % au terme de ces cinq années. Les actions prévues sont les suivantes (Figure 14) :

- ▶ Encadrer le dispositif de dépistage organisé du cancer du col utérin en définissant un cahier des charges qui prendra en compte les enseignements tirés des expérimentations, en ciblant les femmes ne réalisant pas de dépistage et les populations les plus vulnérables.
- ▶ Déployer le dispositif, son suivi et son évaluation en confortant le rôle du médecin généraliste et en s'appuyant sur les structures de gestion du programme de dépistage des cancers.
- ▶ Garantir aux personnes concernées une prise en charge totale des actes de dépistage par l'assurance maladie obligatoire et complémentaire dans le cadre de la mise en place de contrats solidaires et responsables et élargir dans ce cadre l'application de la dispense d'avance de frais (consultations, tests et actes de dépistage).
- ▶ Renforcer le rôle du médecin traitant dans l'initiation, la réalisation et le suivi du dépistage, et ajuster les objectifs de participation des patientèles des médecins traitants dans les objectifs de santé publique.
- ▶ Assurer, sous la responsabilité des ARS, la diversification des effecteurs et lieux de réalisation des frottis cervicaux-utérins, et impliquer l'ensemble des professionnels et collectivités concernés dans le programme de dépistage afin de faire face aux évolutions démographiques (médecins généralistes, gynécologues, sages-femmes, pathologistes, biologistes).
- ▶ Positionner dans le dispositif l'alternative par autoprélèvement pour les femmes qui ne font pas de frottis.
- ▶ Développer des actions d'information et de sensibilisation de la population et cibler particulièrement en lien avec les ARS les départements dont les taux de couverture sont inférieurs à 50 % de la population cible.
- ▶ S'assurer du respect des règles d'assurance qualité à toutes les étapes techniques et opérationnelles du programme.

Figure 14 : Action 1.1. du Plan cancer 2014-2019 (22)

Outre la généralisation du programme de dépistage organisé (action 1.1) et l'amélioration de la couverture vaccinale (action 1.2), le Plan cancer 2014-2019 prévoit d'actualiser les conduites à tenir en cas de FCU anormal. Cela permettra d'avoir des prises en charge adaptées (action 1.3) et d'évaluer la stratégie de lutte contre le CCU (dépistage et vaccination) afin de pouvoir réajuster les actions entreprises (action 1.4).

6.2.3. Nouvelles stratégies de dépistage

Afin d'améliorer la couverture du dépistage du CCU en France, de nouvelles pistes sont à l'étude. Elles seront développées dans la discussion.

Détection des HPV HR

À ce jour, le FCU avec anomalies de type ASC-US est la seule indication de la détection des HPV HR retenue en France, la seule inscrite à la Nomenclature des actes de biologie médicale (NABM), cotation B140, et donc la seule donnant lieu à un remboursement de l'assurance maladie.

La détection des HPV HR peut se faire sur les cellules de la jonction endocol/exocol, recueillies en milieu liquide pour la réalisation d'un FCU (le milieu liquide doit alors être compatible avec la trousse de détection des HPV HR utilisée) ou recueillies spécifiquement pour le test HPV HR (utilisation de milieux de transport spécifiques). La détection de l'ADN viral peut également se faire sur des biopsies ou tissus, ainsi qu'à partir de dispositifs d'auto-prélèvements (aucune recommandation n'étant encore parue concernant les auto-prélèvements).

Grâce à sa sensibilité de détection des lésions de haut grade supérieure à celle du FCU et sa très bonne valeur prédictive négative (VPN), de plus en plus d'études suggèrent l'intérêt d'utiliser le test HPV HR dans d'autres indications :

- dépistage primaire, seul ou associé au FCU ;

- alternative au FCU pour le rattrapage des femmes réticentes à la réalisation du FCU dans le cadre du dépistage organisé (auto-prélèvements) ;
- suivi post-thérapeutique des CIN2/3 ;
- prise en charge des CIN1 ;
- intérêt du génotypage dans le triage des prélèvements HPV+.

Auto-prélèvements

Actuellement il n'existe pas de recommandations nationales concernant les auto-prélèvements, leurs indications et le choix du prélèvement. Comme évoqué dans le Plan cancer 2014-2019, ils pourraient constituer une alternative au FCU dans le cadre du programme de dépistage organisé, permettant ainsi le rattrapage des femmes réticentes à la réalisation du FCU.

Il existe deux types d'auto-prélèvements : l'auto-prélèvement vaginal (APV) et l'auto-prélèvement urinaire. L'APV semble davantage plébiscité au niveau international du fait d'une diminution de la sensibilité de détection des HPV HR encore plus marquée pour l'auto-prélèvement urinaire. Ce dernier, de par sa facilité de recueil à domicile, pourrait néanmoins s'avérer intéressant. Des études sont en cours.

CONTEXTE DE L'ÉTUDE CAPU2

1. Rappels de l'étude CapU1

Comme évoqué précédemment, depuis 2010, un programme de dépistage organisé a été mis en place dans le département du Maine-et-Loire. Ce dépistage organisé est assuré par Cap santé 49, une structure départementale de gestion chargée de la mise en œuvre et de l'évaluation des dépistages organisés des cancers du sein, du col de l'utérus et colorectal. Le protocole, commun aux 13 départements expérimentant ce programme de dépistage organisé, consiste à inviter par courrier les femmes de 25 à 65 ans n'ayant pas réalisé de FCU depuis plus de trois ans à effectuer cet examen. Une relance est envoyée au bout de 9 mois en cas de non-réponse à l'incitation.

C'est dans ce contexte que le laboratoire de virologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) d'Angers, en collaboration avec Cap santé 49, et sur la base d'un financement de la Ligue départementale de lutte contre le cancer, a décidé de lancer une première étude (étude CapU1) proposant un test HPV urinaire comme alternative aux femmes réticentes au dépistage classique par FCU. L'objectif de cette étude CapU était d'augmenter la couverture du dépistage du CCU en Maine-et-Loire, tout en évaluant l'adhésion des femmes à l'auto-prélèvement urinaire pour la détection des HPV HR.

Dans le cadre de cette première campagne de dépistage basée sur l'auto-prélèvement urinaire (CapU1), une troisième relance a été envoyée à 5 000 femmes, âgées de 40 à 65 ans, n'ayant pas réalisé de FCU depuis plus de trois ans, malgré deux relances effectuées par Cap santé 49. Ce courrier les invitait à effectuer un prélèvement urinaire en vue d'une

recherche d'HPV HR comprenait une lettre d'information, un consentement à signer, un questionnaire sur les motifs de refus du FCU, un kit de prélèvement urinaire avec une notice explicative ainsi qu'une enveloppe préaffranchie pour le retour du prélèvement. Entre novembre 2012 et janvier 2013, 771 prélèvements urinaires ont été reçus au laboratoire et 687 ont pu être analysés. Parmi eux, 29 étaient positifs à HPV HR (prévalence HPV = 4,2 %). Les FCU réalisés chez les femmes dont le test HPV HR urinaire était positif ont révélé la présence, pour 9 d'entre eux, d'anomalies cytologiques dont 3 HSIL, 2 LSIL, 1 ASC-H et 3 ASC-US. Les coloscopies avec biopsies réalisées par la suite ont permis le diagnostic de trois lésions cervicales de haut grade (28),(29).

L'étude CapU1 a permis de prendre en charge rapidement des lésions précancéreuses sévères et d'augmenter la couverture du dépistage dans le département du Maine-et-Loire. La recherche d'HPV HR sur auto-prélèvement urinaire pourrait constituer une alternative au dépistage par FCU chez les femmes réticentes, peu ou pas dépistées.

2. Objectifs de l'étude CapU2

En septembre 2014, le laboratoire de virologie du CHU d'Angers, en accord avec Cap santé 49, a décidé de lancer une deuxième campagne de dépistage (CapU2) avec pour objectifs :

- de confirmer l'acceptabilité de l'auto-prélèvement urinaire chez les femmes ayant participé à CapU1 ;
- de leur assurer un suivi virologique et gynécologique à deux ans de la première campagne ;
- et de comparer deux techniques de PCR TR pour la détection et le génotypage des HPV : Abbott RealTime High Risk HPV versus Anyplex™ II HPV28 Detection, Seegene.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Population étudiée

La liste des femmes contactées pour cette deuxième campagne de dépistage a été établie par Cap santé 49.

Il s'agissait de l'ensemble des femmes ayant participé à la première campagne : 687 femmes qui étaient âgées de 40 à 65 ans en novembre 2012 et n'avaient pas réalisé de FCU depuis plus de trois ans, malgré deux relances effectuées par Cap santé 49.

Les femmes ayant subi une hystérectomie totale et celles ne souhaitant pas participer à l'étude ont été exclues de l'étude.

2. Modalités de l'étude

Le laboratoire de virologie du CHU d'Angers, en collaboration avec Cap santé 49 et La Poste, a préparé 687 courriers.

Chaque courrier comprenait une note d'information sur le test HPV urinaire et les objectifs de cette deuxième campagne, un consentement à signer par la patiente en cas de participation à l'étude, un kit de prélèvement urinaire accompagné d'une notice explicative pour la réalisation du prélèvement à domicile, ainsi qu'une enveloppe (Lettre Max adaptée aux prélèvements biologiques) préaffranchie à l'attention du laboratoire de virologie du CHU d'Angers pour le retour du prélèvement.

Sur les 687 courriers préparés, 666 ont effectivement été envoyés par La Poste, les 21 courriers restants étant adressés à des femmes exclues de l'étude pour cause d'hystérectomie totale, de décès ou de déménagement hors département.

3. Détection des HPV dans les urines (30)

Les prélèvements urinaires ont été analysés grâce à une technique de PCR TR qualitative, commercialisée par les laboratoires Abbott (Abbott RealTime High Risk HPV).

Il s'agit d'un test combiné permettant la détection et le génotypage des HPV 16 et 18, ainsi que la détection de 12 autres HPV HR sans distinction de type (HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68). Ce test est validé par son fournisseur uniquement sur les prélèvements cervicaux. Son utilisation sur les prélèvements urinaires a été validée par le laboratoire de virologie du CHU d'Angers.

Cette technique entièrement automatisée est adaptée à des séries de grande taille, avec un délai de rendu des résultats rapide (environ 4 h pour une série de 48 échantillons). Elle utilise la plateforme Abbott *m2000* constituée de deux appareils : le *m2000sp* pour la préparation des échantillons (extraction génomique et ajout des éluats au mélange réactionnel de la PCR) et le *m2000rt* pour la PCR elle-même (amplification et détection de l'ADN HPV). (Figure 15) Cette plateforme, déjà installée au laboratoire, est utilisée en routine pour la réalisation des PCR virus de l'hépatite B (VHB), virus de l'hépatite C (VHC), VIH et *Chlamydia trachomatis*.



Figure 15 : Plateforme Abbott *m2000* (30)

3.1. Principes biologiques de la technique

L'amplification des ADN cibles est réalisée grâce à un mélange d'amorces (trois amorces sens et deux amorces anti-sens) ciblant une région conservée du génome des HPV (région L1 codant pour la protéine majeure de capsid).

Le signal est généré par des sondes ADN simple brin marquées par des fluorochromes (Figure 16).

La bêta-globine humaine endogène est utilisée comme contrôle interne pour évaluer la richesse cellulaire des échantillons et valider l'efficacité des phases d'extraction et d'amplification. L'amplification et la détection du contrôle interne sont réalisées grâce à des amorces et à une sonde spécifiques d'une région de la bêta-globine humaine endogène.

Les sondes spécifiques de l'HPV 16, de l'HPV 18, du panel des 12 autres HPV HR et du contrôle interne sont marquées par des fluorochromes différents permettant leur détection au cours d'une seule et même réaction (principe de la PCR multiplex).

3.2. Phase pré-analytique

À leur arrivée au laboratoire, les prélèvements ont été enregistrés à l'aide du logiciel du laboratoire (GLIMS). Un numéro d'échantillon leur a ainsi été attribué.

Pour chaque échantillon, 2,5 mL d'urines provenant du flacon primaire ont été transférées dans un tube provenant d'un kit de recueil de cellules cervicales fourni par Abbott (Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit), contenant un liquide de conservation et permettant une pré-lyse cellulaire avant l'étape d'extraction. Le flacon primaire et le tube Cervi-Collect ont ensuite été conservés à +4 °C.

Parallèlement, et de manière systématique, un aliquot de 2 mL a été réalisé à partir du flacon primaire et ensuite conservé à -20 °C, afin de constituer une biothèque.

Les échantillons ont été passés sur les automates de la plateforme *m2000* par série de 24 ou 48. Dans chaque série, en plus du contrôle interne représenté par la bêta-globine, un contrôle négatif et un contrôle positif ont été inclus afin de valider la série.

3.3. Extraction

Cette étape a pour objectif d'extraire, d'isoler et de purifier les molécules d'ADN cibles en vue de l'amplification.

L'extraction est réalisée à partir de 400 µL d'urines provenant du tube Cervi-Collect. Elle a lieu sur le *m2000sp*.

Cet automate utilise la technologie des microbilles magnétiques pour capturer les acides nucléiques. Ces microbilles sont constituées de silice, qui possède la propriété naturelle de se lier à l'ADN. Une fois les microbilles liées aux acides nucléiques présents dans l'échantillon, leur propriété magnétique est utilisée, via un aimant, pour les séquestrer au fond du tube et ainsi séparer les complexes silice/ADN du surnageant. S'en suivent des étapes de lavage permettant d'éliminer les composants de l'échantillon non liés aux microbilles. Puis, les acides nucléiques liés sont élués et sont alors prêts pour l'amplification.

3.4. Assemblage de la plaque de réaction

Le *m2000sp* mélange les différents réactifs d'amplification : les oligonucléotides et les désoxyribonucléotides triphosphate ou dNTPs (HPV Oligonucleotide Reagent), la Taq polymérase (AmpliTaq Gold) et le réactif d'activation ou magnésium (Activation Reagent). Puis il distribue le master mix ainsi obtenu et les éluats d'échantillon dans la plaque de réaction optique à 96 puits (Abbott 96-Well Optical Reaction Plate). La plaque est scellée manuellement puis transférée sur le *m2000rt* qui procèdera à l'amplification.

3.5. Amplification

L'amplification a lieu sur le *m2000rt*.

Au cours de cette étape, l'ADN cible est amplifié par l'AmpliTaq Gold en présence de dNTPs et de magnésium.

L'AmpliTaq Gold est une enzyme thermophile présentant, au niveau de son site actif, une molécule qui l'inactive. En chauffant l'enzyme avant le début de la PCR, la molécule inhibitrice se détache du site actif, ce qui permet à l'enzyme de redevenir active. De cette façon, l'enzyme n'est active qu'à des températures auxquelles seules des interactions ADN-ADN spécifiques sont possibles. Ceci permet d'éviter au maximum les interactions non spécifiques, comme les dimères d'amorces, qui constituent des artefacts de PCR.

L'AmpliTaq Gold est donc initialement chauffée à 92 °C pendant 10 minutes pour être activée. Puis la PCR débute. Chaque cycle comprend : une première phase au cours de laquelle une température élevée permet de séparer les doubles brins d'ADN, puis une deuxième phase au cours de laquelle une température basse permet aux amorces de s'hybrider avec leurs séquences cibles et de s'étendre, sous l'action de l'AmpliTaq Gold, pour créer des produits d'ADN double brin. La répétition des cycles, alternant températures élevées et basses, aboutit à une amplification exponentielle des séquences cibles.

Les séquences cibles HPV et contrôle interne sont amplifiées simultanément au cours d'une seule et même réaction. La séquence cible des HPV se situe dans une région conservée du génome des HPV d'environ 150 bases (région L1 codant pour la protéine majeure de

capside). La séquence cible du contrôle interne se situe dans une région du gène de la bêta-globine humaine endogène de 136 bases.

3.6. Détection

Pendant les 38 derniers cycles de l'amplification, lors d'une étape de lecture supplémentaire, la température est encore abaissée de manière à permettre la détection par fluorescence des produits amplifiés au cours de l'hybridation des sondes HPV et contrôle interne avec leurs cibles.

Il s'agit donc d'une détection par fluorescence en temps réel. Les sondes HPV et contrôle interne sont des sondes ADN simple brin portant, à une extrémité, un fluorochrome émetteur (ou *reporter*) et, à l'autre extrémité, un fluorochrome suppresseur (ou *quencher*). En l'absence de séquences cibles auxquelles se lier, les sondes adoptent une conformation telle, que le *quencher* se retrouve assez proche du *reporter* pour inhiber sa fluorescence. Lorsque les sondes se lient à leurs séquences cibles, le *quencher* se retrouve éloigné du *reporter*, ce dernier émettant alors une fluorescence détectée par le *m2000rt* (Figure 16).

Les sondes spécifiques de l'HPV 16, de l'HPV 18, du panel des 12 autres HPV HR et du contrôle interne sont marquées par des fluorochromes différents permettant leur détection simultanée au cours d'une seule et même réaction, via quatre canaux différents (respectivement VIC, NED, FAM et Cy5).

Single stranded probe design

- In the absence of target sequences, the probes adopt a conformation that brings the quencher close enough to the excited fluorophore to absorb its energy before it can be fluorescently emitted.
- These are linear probes that fold naturally into a random coil to be in the “off” configuration.

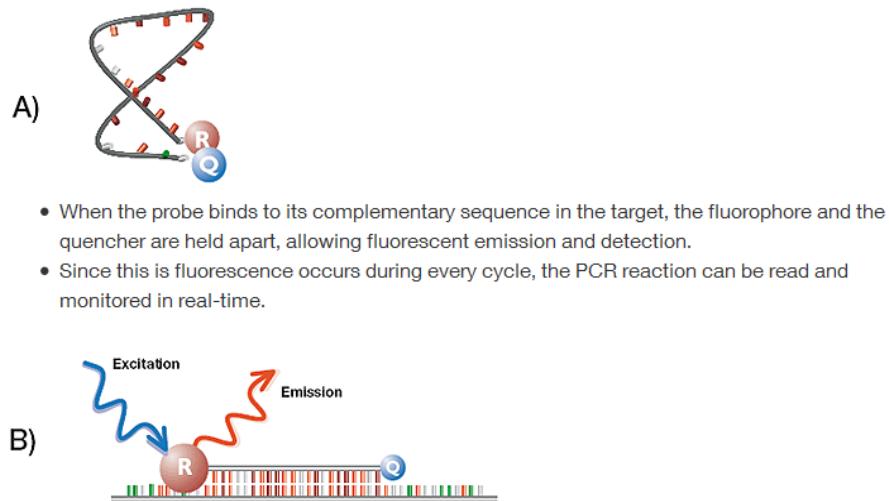


Figure 16 : Principe de la détection par fluorescence en temps réel Abbott RealTime High Risk HPV (30)

3.7. Rendu des résultats

Les résultats sont uniquement qualitatifs, il n'y a pas de quantification de la charge virale.

Pour chaque échantillon, sont évalués trois signaux HPV : HPV 16, HPV 18 et *Other HR HPV*, correspondant au panel des 12 autres HPV HR détectés.

Pour chaque signal, on détermine le Ct (*Cycle threshold* ou cycle seuil), c'est-à-dire le nombre de cycles à partir duquel le produit de PCR est détectable. Puis, on compare le Ct au Ct de référence fixé par le fournisseur (Ct établi à 32 par Abbott pour détecter des lésions CIN2+, nous l'avons augmenté à 34 pour cette étude pour pouvoir dépister des lésions moins graves). Si le Ct est inférieur au Ct de référence, le signal est considéré comme

Detected (détecté) ; si le Ct est non généré, supérieur ou égal au Ct de référence, le signal est considéré comme *Not Detected* (non détecté).

Pour chaque échantillon, le résultat de chacun des trois signaux est indiqué, avec la valeur du Ct correspondante. Les échantillons pour lesquels l'un des trois signaux HPV a été détecté sont considérés comme *HR HPV Detected* (positifs) ; ceux pour lesquels aucun signal HPV n'a été détecté sont considérés comme *Not Detected* (négatifs).

En cas de résultat négatif, un compte-rendu a été adressé à la patiente, accompagné d'une lettre de remerciement pour sa participation à l'étude et d'une incitation à réaliser un FCU dans l'année. Une copie du compte-rendu a également été envoyée au médecin traitant et/ou au gynécologue, ainsi qu'à Cap santé 49.

En cas de résultat positif, le compte-rendu a été envoyé au médecin traitant et/ou au gynécologue, après transmission des résultats par téléphone. La patiente a ensuite été informée du résultat directement par son médecin qui lui a remis le compte rendu du résultat qui lui était destiné, tout en l'invitant à réaliser un FCU dans les plus brefs délais.

3.8. Validation de la série

Chaque série comprend un contrôle négatif et un contrôle positif, nécessaires pour vérifier le bon déroulement de l'ensemble des étapes de la PCR (extraction, amplification, détection). Ces contrôles viennent compléter le contrôle interne (bêta-globine) détecté dans chaque échantillon ou contrôle. Ils doivent être traités avec les échantillons avant l'étape d'amplification.

Le contrôle négatif (Abbott RealTime High Risk HPV Negative Control) est constitué d'ADN contenant la séquence du contrôle interne. Le seul signal détecté pour le contrôle négatif doit donc être le signal du contrôle interne dans le canal Cy5.

Le contrôle positif (Abbott RealTime High Risk HPV Positive Control) est constitué d'ADN contenant les séquences de l'HPV 16, de l'HPV 18, de l'HPV 58 et du contrôle interne. Les quatre signaux doivent donc être détectés pour le contrôle positif (signal HPV 16 dans le canal VIC, signal HPV 18 dans le canal NED, signal HPV 58 dans le canal FAM et signal contrôle interne dans le canal Cy5).

3.9. Test INNO-LiPA® HPV Genotyping Extra (Innogenetics)

La technique Abbott ne permettant pas de génotyper les HPV HR autres que l'HPV 16 et l'HPV 18, nous avons réalisé un génotypage par hybridation moléculaire inverse chez les patientes pour lesquelles le test Abbott avait détecté un HPV HR autre que l'HPV 16 ou l'HPV 18.

Le test INNO-LiPA® HPV Genotyping Extra permet la détection de 28 génotypes d'HPV dont 15 HPV HR (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82), 3 potentiellement à haut risque (26, 53, 66), 7 HPV BR (6, 11, 40, 43, 44, 54, 70) et 3 non classés (69, 71, 74).

Ce test repose sur une PCR conventionnelle utilisant des amores biotinylées (SPF10), dont la cible est un fragment de 65 paires de bases de la région L1. Les produits de PCR sont ensuite hybridés sur une bandelette de cellulose, où des oligonucléotides spécifiques des différents génotypes d'HPV sont fixés en bandes parallèles. Un conjugué (streptavidine

marquée à la phosphatase alcaline) est ajouté et vient se fixer sur la biotine des produits de PCR. En fin de réaction, l'ajout d'un substrat permet la formation d'un précipité coloré visualisé sous la forme d'une bande. La lecture peut se faire à l'œil nu ou être automatisée.

Ce génotypage des HPV HR, autres que l'HPV 16 et l'HPV 18, a été réalisé à visée épidémiologique uniquement. Le résultat n'ayant pas d'impact sur la prise en charge ultérieure des patientes, il n'a pas été transmis.

4. Anyplex™ II HPV28 Detection (Seegene) (31)

Lors de cette deuxième campagne de dépistage, les prélèvements urinaires ont été ré-analysés par une autre technique de PCR TR qualitative (Anyplex™ II HPV28 Detection, Seegene).

Il s'agit d'un test combiné permettant la détection et le génotypage de 28 HPV, répartis en deux panels : le panel A avec 14 HPV HR (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) et le panel B avec 5 HPV HR (HPV 26, 53, 69, 73, 82) et 9 HPV BR (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70).

Cette technique utilise le système de PCR TR Bio-Rad CFX96™ pour l'amplification et la détection de l'ADN HPV. Elle peut être entièrement automatisée si l'extraction génomique et l'ajout des éluats au mélange réactionnel de la PCR sont réalisés par un seul et même appareil, le MICROLAB Nimbus IVD ou le MICROLAB STARlet.

4.1. Principes biologiques de la technique

L'amplification des ADN cibles est réalisée grâce à un duo d'amorces de spécificité augmentée (amorces DPO™).

Le signal est généré suite à l'interaction de deux matrices ADN simple brin (le *Pitcher* et le *Catcher*), l'une d'entre elles étant marquée par des fluorochromes (Figure 17).

La bêta-globine humaine endogène est utilisée comme contrôle interne avec les mêmes objectifs que dans la technique Abbott : évaluation de la richesse cellulaire, validation de l'extraction et de l'amplification.

Les matrices spécifiques des 28 HPV et du contrôle interne sont marquées par des fluorochromes différents permettant leur détection au cours d'une seule et même réaction (principe de la PCR multiplex). Elles présentent également des températures de fusion différentes permettant une augmentation du potentiel de détection de la PCR multiplex (principe de la technologie TOCE™) (Figure 18).

4.2. Phase pré-analytique

Il n'y a pas eu de nouvelle phase pré-analytique, les échantillons utilisés étant ceux qui avaient été précédemment analysés par la technique Abbott.

4.3. Extraction

Il n'y a pas eu de nouvelle extraction génomique, les plaques d'élution des séries Abbott ayant été conservées à -20 °C.

4.4. Assemblage des barrettes de réaction

Cette étape a été réalisée manuellement.

Les différents réactifs d'amplification sont mélangés dans des barrettes opaques (Bio-Rad Low-Profile 0,2 mL PCR Tube Strips). Dans chaque cupule de la barrette sont distribués : 5 µL de réactifs d'amplification et de détection du panel A (4X HPV28 A TOM) ou du panel B (4X HPV28 B TOM), 5 µL d'un mélange contenant la Taq Polymérase et les dNTPs (4X Anyplex PCR Master Mix), 5µL d'eau (Eau RNase-free) et 5 µL d'éluat d'échantillon. Les barrettes sont scellées puis transférées sur le CFX96™ qui procèdera à l'amplification.

4.5. Amplification

L'amplification a lieu sur le CFX96™.

Au cours de cette étape, l'ADN cible est amplifié par la Taq polymérase en présence de dNTPs.

Le déroulement de cette étape est identique à celui décrit précédemment pour la technique Abbott. Seul le profil thermique varie (nombre de cycles, température, durée).

4.6. Détection

Le signal peut être mesuré en temps réel et/ou analysé par le biais des courbes de fusion. Dans ce cas, lors de trois étapes de lecture supplémentaires appelées points de fusion, la température est augmentée par paliers successifs et la fluorescence est mesurée en parallèle, de manière à déterminer la température de fusion des produits amplifiés (sachant que chaque amplicon, en fonction de sa séquence, possède une température de fusion qui lui est propre).

Le test Anyplex s'appuie sur la technologie TOCE™ (*Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension*). Cette technologie repose sur deux composés essentiels : le *pitcher* et le *catcher*. Le *pitcher* est un oligonucléotide simple brin qui se lie à la séquence cible. Le *catcher* est une matrice simple brin artificielle marquée par deux fluorochromes, le *quencher* et le *reporter*. En présence de leur séquence cible, les amorces DPO™ et le *pitcher* se lient à cette séquence. Lors de la phase d'elongation, le *pitcher* est clivé. Sa portion non liée à la séquence cible (ou *tagging portion*) est ainsi libérée et vient s'hybrider à sa séquence complémentaire présente sur le *catcher*. L'elongation de la *tagging portion* sur le *catcher* entraîne la séparation du *quencher* et du *reporter*, permettant alors à ce dernier d'émettre une fluorescence détectée par le CFX™96 (Figure 17).

Les matrices spécifiques des 28 HPV et du contrôle interne sont marquées par des fluorochromes différents permettant leur détection simultanée au cours d'une seule et même

réaction, via cinq canaux différents (FAM, HEX, Cal Red 610, Quasar 670 et Quasar 705). Par ajustement de la séquence et de la longueur du *catcher*, elles présentent également des températures de fusion différentes permettant leur détection simultanée au sein d'un seul et même canal (Figure 18).

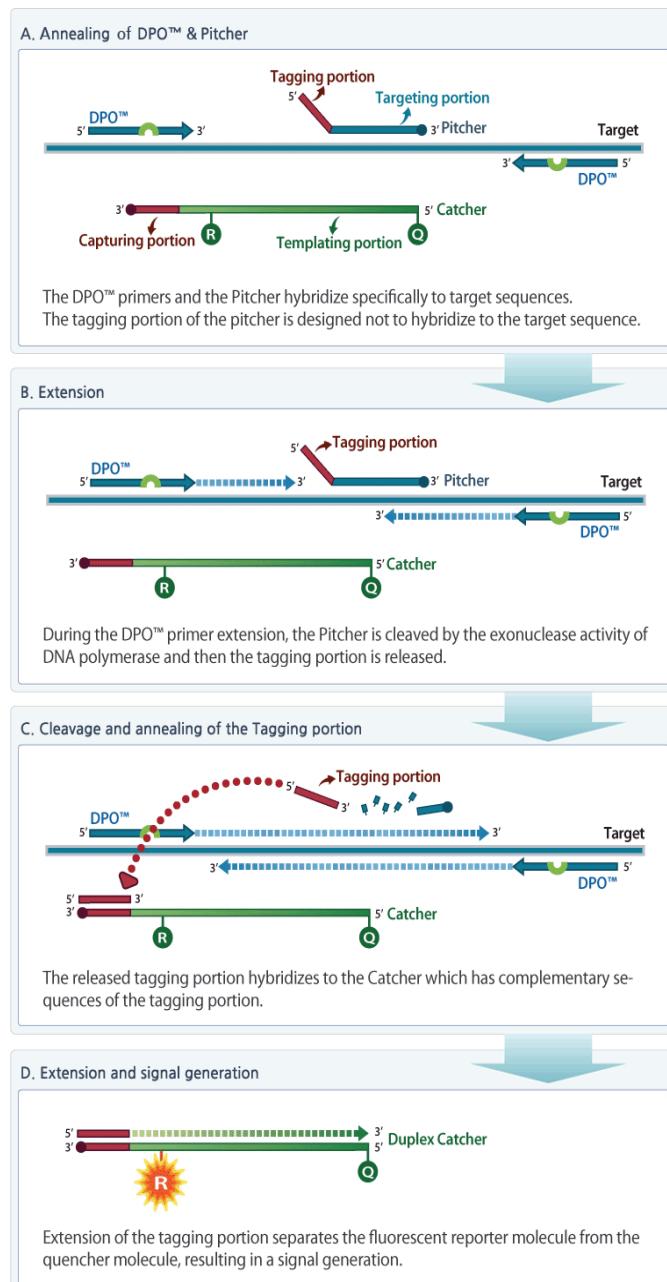


Figure 17 : Principe de la technologie TOCE™ (31)

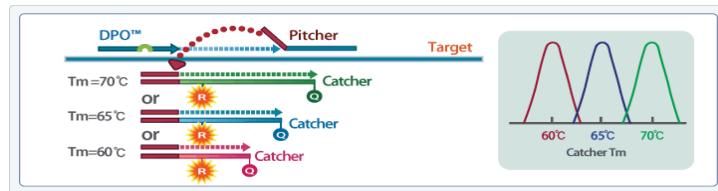


Figure 18 : Ajustement du *catcher* (31)

4.7. Rendu des résultats

28 signaux HPV sont évalués pour chaque échantillon.

Pour chaque signal, on procède à une analyse répétée des courbes de fusion (cCMTA ou *cyclic Catcher Melting Temperature Analysis*). À chacun des trois points de fusion ou points CMTA, on évalue la détection ou l'absence de détection de la température de fusion spécifique du signal. Si la température de fusion du signal est détectée à l'un des trois points CMTA au minimum, le signal est considéré comme détecté ; si la température de fusion du signal n'est détectée à aucun des trois points CMTA, le signal est considéré comme non détecté (Figure 19).

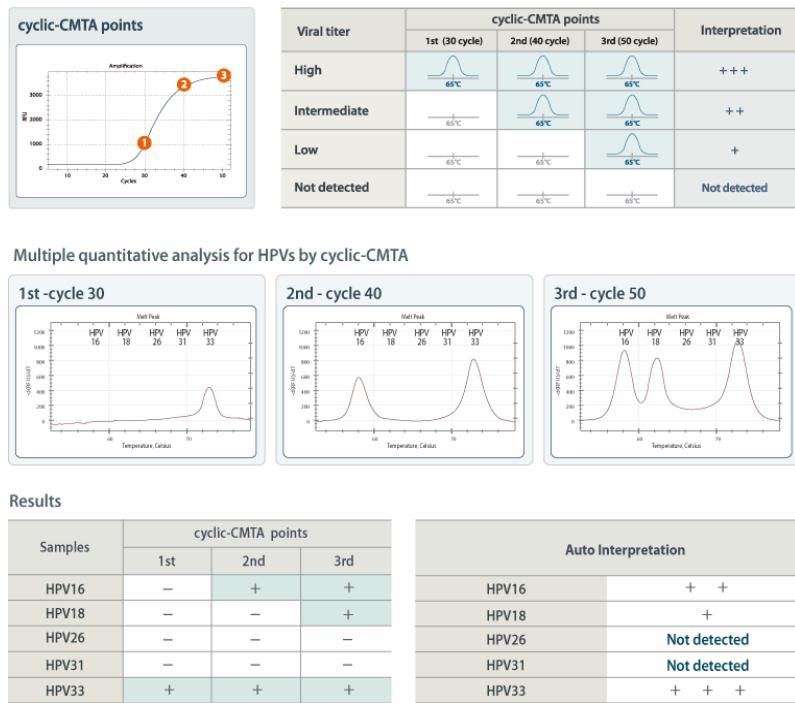


Figure 19 : Principe de la cCMTA (31)

Pour chaque échantillon, le résultat de chacun des 28 signaux est indiqué, ainsi que celui du contrôle interne.

Les échantillons pour lesquels au moins l'un des 28 signaux HPV, ainsi que le signal du contrôle interne, ont été détectés sont considérés comme positifs (ADN HPV détecté avec identification de la (ou des) cible(s) HPV).

Les échantillons pour lesquels au moins l'un des 28 signaux HPV a été détecté, alors que le signal du contrôle interne est faible ou n'a pas été détecté, sont considérés comme positifs (ADN HPV détecté avec identification de la (ou des) cible(s) HPV, mais d'autres génotypes HPV qui n'ont pas été détectés peuvent être présents).

Les échantillons pour lesquels aucun des 28 signaux HPV n'a été détecté, alors que le signal du contrôle interne l'a été, sont considérés comme négatifs (ADN HPV non détecté).

Les échantillons pour lesquels aucun des 28 signaux HPV n'a été détecté, alors que le signal du contrôle interne est faible ou n'a pas été détecté, sont considérés comme invalides (prélèvement ou préparation inadéquate de l'échantillon, présence d'inhibiteurs, phénomène de compétition).

Les prélèvements ayant été analysés avec la technique Anyplex dans le cadre d'une comparaison, les résultats obtenus lors de ces manipulations n'ont pas été transmis.

4.8. Validation de la série

Chaque série comprend un contrôle négatif et trois contrôles positifs, qui comme dans la technique Abbott permettent de vérifier le bon déroulement de la PCR. Ces contrôles viennent compléter le contrôle interne (bêta-globine) présent dans chaque échantillon ou contrôle. Ils doivent être traités avec les échantillons avant l'étape d'amplification.

Le contrôle négatif (NC) est constitué d'eau (Eau RNase-free). Aucun signal ne doit donc être détecté pour ce contrôle négatif.

Les contrôles positifs (HPV28 PC1, HPV28 PC2, HPV28 PC3) sont constitués d'ADN contenant les séquences de 5 cibles HPV du panel A (dont le contrôle interne pour HPV28 PC1) et de 5 cibles HPV du panel B (dont le contrôle interne pour HPV28 PC1). L'ensemble des 10 signaux doit donc être détecté pour chacun des contrôles positifs (2 signaux dans chaque canal).

RÉSULTATS

1. Abbott RealTime High Risk HPV

1.1. Taux de participation

De septembre 2014 à novembre 2014, 666 courriers ont été envoyés à 463 femmes âgées de 40 à 54 ans et 203 femmes âgées de 55 à 65 ans, toutes ayant participé à CapU1 (Figure 20).

Les taux de réponses sont répartis de la façon suivante (Figure 20) :

- pour les patientes âgées de 40 à 54 ans : 236 réponses sont parvenues au laboratoire, accompagnées d'un prélèvement et du consentement signé ;
- pour les patientes âgées de 55 à 65 ans : 137 réponses sont parvenues au laboratoire, accompagnées d'un prélèvement. Parmi ces 137 prélèvements, un seul était accompagné d'un refus de participer à l'étude, la PCR n'a donc pas été réalisée sur ce prélèvement.

Au total (Figure 20) : 373 réponses sont parvenues au laboratoire, accompagnées d'un prélèvement, ce qui représente 56,01 % des 666 courriers envoyés. La PCR Abbott RealTime High Risk HPV a été réalisée sur 372 des 373 prélèvements reçus, une patiente ayant refusé d'y participer malgré l'envoi du prélèvement urinaire, ce qui représente 55,86 % des 666 courriers de départ.

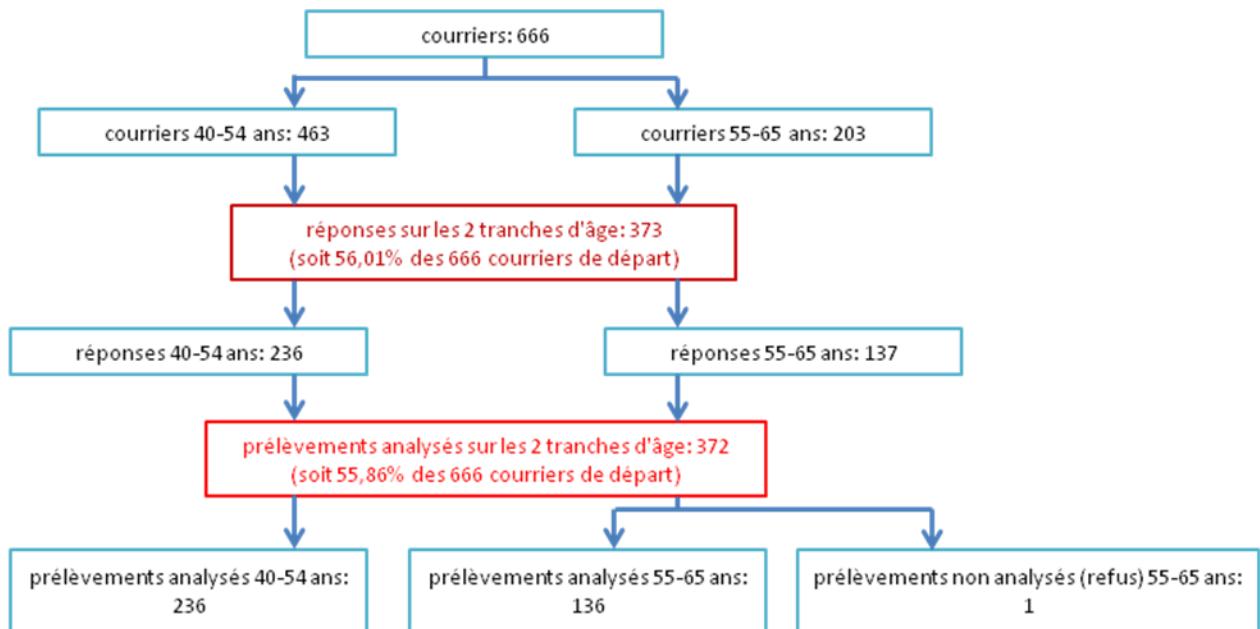


Figure 20 : Détails sur la participation à CapU2

1.2. Prévalence et incidence HPV

Les résultats des PCR réalisées sont répartis de la façon suivante :

- pour les femmes âgées de 40 à 54 ans : sur les 236 PCR réalisées, 229 étaient négatives (97,03 %), 6 étaient positives (2,54 %) et 1 était ininterprétable (0,43 %) ;
- pour les femmes âgées de 55 à 65 ans : sur les 136 PCR réalisées, 129 étaient négatives (94,85 %), 5 étaient positives (3,68 %) et 2 étaient ininterprétables (1,47 %).

Au total : sur les 372 PCR réalisées, 358 étaient négatives (96,24 %), 11 étaient positives (2,96 %) et 3 étaient ininterprétables (0,80 %) (Tableau V).

La prévalence d'infections à HPV au cours de cette deuxième campagne de dépistage est de 2,96 % (Tableau V). Parmi les 11 patientes positives, 3 l'étaient déjà lors de la première campagne de dépistage, 8 patientes ont donc été nouvellement infectées. L'incidence

d'infections à HPV est de 2,16 % (Tableau VI). L'âge moyen de survenue d'infections à HPV au cours de cette deuxième campagne de dépistage est de 58,25 ans.

Tableau V : Prévalence HPV 40-65 ans

	Nombre	%
HPV+	11	2,96
HPV-	358	96,24
Ininterprétable	3	0,80
Total	372	100

Tableau VI : Incidence HPV 40-65 ans

	Nombre	%
HPV+ non connu	8	2,16
HPV+ connu	3	0,80
HPV-	358	96,24
Ininterprétable	3	0,80
Total	372	100

Parmi les 358 patientes négatives, 347 l'étaient déjà lors de la première campagne de dépistage, 8 étaient positives et sont devenues négatives, 2 avaient un prélèvement ininterprétable et 1 patiente, bien que contactée dès la première campagne de dépistage, n'a participé qu'à la deuxième.

Des problèmes techniques ont été rencontrés pour 3 des 372 prélèvements analysés. Le *m2000rt* n'ayant rendu aucun résultat lors du premier passage de ces prélèvements, ces derniers ont été ré-analysés (extraction/amplification) après avoir été congelés puis décongelés. L'objectif de ce cycle de congélation/décongélation était de s'affranchir de la présence d'éventuels inhibiteurs dans les prélèvements. Aucun signal d'amplification n'ayant

été détecté lors du deuxième passage, ces 3 prélèvements ont donc été considérés comme ininterprétables.

1.3. Génotypage HPV

Parmi les 11 PCR positives, la distribution des génotypes HPV est la suivante :

- 1 HPV 16 ;
- 10 HPV HR autres.

Aucun HPV 18 n'a été détecté. Aucune co-infection HPV 16 + HPV HR autres n'a été mise en évidence.

Les 10 prélèvements rendus positifs à HPV HR autres par la technique Abbott ont été analysés dans un second temps par le test INNO-LiPA® afin de déterminer le génotype exact de ces HPV HR autres. Les génotypes retrouvés sont les suivants : 1 HPV 18, 1 HPV 31, 1 HPV 35, 1 HPV 53, 1 HPV 54, 1 HPV 59, 1 HPV 68, 1 HPV 70, 2 HPV 74, 3 HPV 51, 3 HPV 52 et 5 HPV 39. Ils ont été détectés en mono-infection ou en co-infection pour ceux ne faisant pas partie du panel de génotypes détectés par la trousse Abbott, à savoir les HPV 54, 70 et 74. L'HPV 53, qui lui non plus ne fait pas partie du panel de génotypes détectés par la trousse Abbott, a pourtant été détecté en mono-infection : le prélèvement urinaire de cette patiente ayant été reçue trois mois après la fin de CapU2, il n'a pas pu être intégré aux séries Abbott et n'a donc été analysé qu'en INNO-LiPA®. À noter également, un HPV 18 a été détecté en co-infection en INNO-LiPA® mais pas en Abbott.

Les génotypes HPV (techniques Abbott et INNO-LiPA® confondues) sont répartis de la manière suivante (Figure 21) :

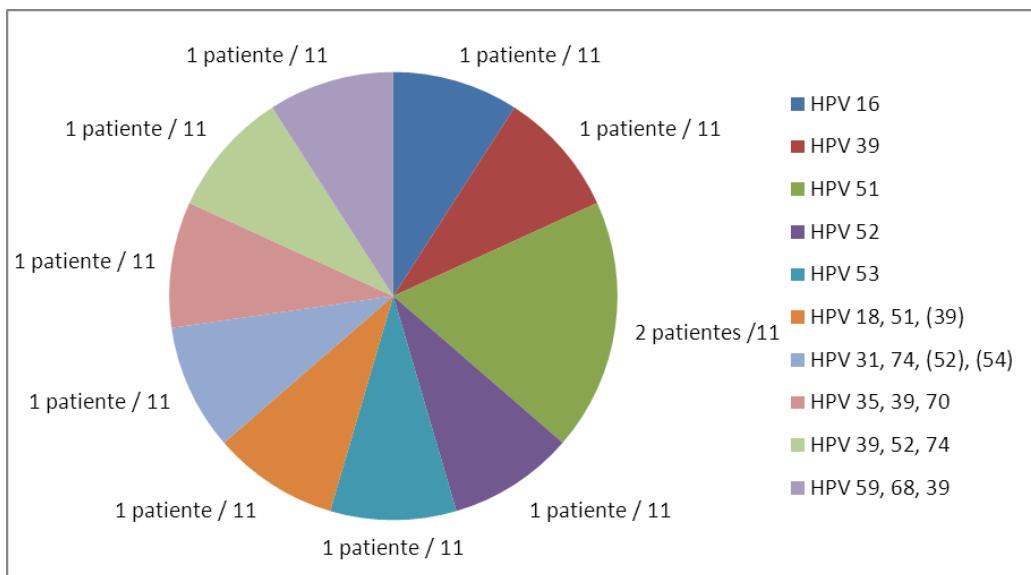


Figure 21 : Distribution des génotypes HPV Abbott/INNO-LiPA®

1.4. Suivi virologique des patientes HPV+ CapU1

Parmi les 29 patientes HPV+ de CapU1, 18 (62,07 %) n'ont pas donné suite lors de cette deuxième campagne de dépistage. 11 ont donc participé à CapU2, soit un taux de suivi des patientes HPV+ entre les deux campagnes de dépistage de 37,93 % (Tableau XII).

Parmi les 11 patientes HPV+ de CapU1 ayant participé à CapU2 (Tableau XII) :

- 3 sont restées positives (3 HPV HR autres CapU1 → 3 HPV HR autres CapU2), ceci traduisant une persistance de l'infection à HPV ;
- 8 sont devenues négatives (2 HPV 16, 1 HPV 16 + HPV HR autres, 5 HPV HR autres CapU1 → 8 négatifs CapU2). Une seule d'entre elles ayant été traitée entre les deux campagnes de

dépistage, pour les 7 autres patientes la négativation du test HPV est compatible avec une clairance naturelle du virus.

1.5. Suivi gynécologique des patientes HPV+ CapU2

En cas de PCR positive lors de cette deuxième campagne de dépistage, le résultat était transmis directement aux médecins traitants et/ou aux gynécologues afin qu'ils puissent en informer leurs patientes et les inciter à réaliser un FCU dans les plus brefs délais. Cap santé 49 était chargé du suivi de ces patientes, et notamment de relancer celles qui n'auraient pas réalisé de FCU malgré une PCR positive.

À l'heure actuelle, 7 des 11 patientes HPV+ de CapU2 ont effectivement réalisé un FCU suite à cette deuxième campagne de dépistage. Il s'agit de 7 patientes nouvellement infectées (7 négatifs HPV CapU1 → 1 HPV 16, 6 HPV HR autres CapU2). Toutes ont présenté un FCU normal (Tableaux VII, XII).

Concernant les 4 patientes restantes, elles n'ont pas donné suite aux relances de Cap santé 49 à ce jour (Tableaux VII, XII). Il s'agit de :

- 1 patiente nouvellement infectée (négatif CapU1 → HPV HR autres CapU2). Entre les deux campagnes de dépistage, elle a réalisé un FCU qui était normal.
- 2 patientes connues HPV+ (2 HPV HR autres CapU1 → 2 HPV HR CapU2). Elles aussi ont réalisé un FCU entre les deux campagnes de dépistage. Toutes les 2 ont présenté un FCU normal.

Ces 3 patientes ayant réalisé un FCU l'année précédente, il était difficile pour Cap santé 49 de les convaincre d'en refaire un alors que le précédent était normal, et ce malgré une PCR qui s'est positivée entre les deux campagnes de dépistage.

- 1 patiente connue HPV+ (1 HPV HR autres CapU1 → 1 HPV HR autres CapU2). Elle a présenté des lésions histologiques de type LSIL sur le FCU réalisé suite à CapU1, mais depuis refuse toute prise en charge, et notamment la colposcopie. Son cas s'avère préoccupant.

Tableau VII : Suivi des patientes HPV+ CapU2

Âge (années)	Abbott CapU1	FCU CapU1	Abbott CapU2	FCU CapU2
63	négatif		HPV 16	normal
62	négatif		HPV HR autres	normal
63	négatif		HPV HR autres	normal
63	négatif	normal	HPV HR autres	normal
43	négatif		HPV HR autres	normal
55	négatif		HPV HR autres	normal
56	négatif	normal	HPV HR autres	normal
60	négatif	normal	HPV HR autres	
42	HPV HR autres	normal	HPV HR autres	
45	HPV HR autres	normal	HPV HR autres	
50	HPV HR autres	LSIL	HPV HR autres	

2. Comparaison de méthodes

2.1. Anyplex™ II HPV28 Detection

370 des 372 prélèvements initialement analysés par la technique Abbott ont été ré-analysés dans un second temps par une autre technique de PCR TR qualitative, la technique Anyplex.

Sur les 370 PCR Anyplex réalisées, 350 étaient négatives (94,59 %) et 20 étaient positives (5,41 %) (Tableau VIII).

La prévalence d'infections à HPV au cours de cette deuxième campagne de dépistage est de 5,41 % (Tableau VIII). Parmi les 20 patientes positives, 3 l'étaient déjà lors de la première campagne de dépistage, 17 patientes ont donc été nouvellement infectées. L'incidence d'infections à HPV est de 4,60 % (Tableau IX). L'âge moyen de survenue d'infections à HPV au cours de cette deuxième campagne de dépistage est de 58,12 ans.

Tableau VIII : Prévalence HPV 40-65 ans Anyplex

	Nombre	%
HPV+	20	5,41
HPV-	350	94,59
Total	370	100

Tableau IX : Incidence HPV 40-65 ans Anyplex

	Nombre	%
HPV+ non connu	17	4,60
HPV+ connu	3	0,81
HPV-	350	94,59
Total	370	100

Parmi les 20 PCR Anyplex positives, la distribution des génotypes HPV est la suivante :

- 15 HPV HR dont 1 HPV 16 ;
- 2 HPV BR ;
- 3 co-infections HPV HR + HPV BR.

Les génotypes retrouvés sont les suivants : 1 HPV 16, 1 HPV 35, 1 HPV 44, 1 HPV 66, 2 HPV 31, 2 HPV 39, 2 HPV 40, 2 HPV 42, 2 HPV 51, 2 HPV 52, 2 HPV 59, 2 HPV 68, 3 HPV 53 et 5 HPV 73. Ils ont été détectés en mono-infection ou en co-infection, et sont répartis de la manière suivante (Figure 22) :

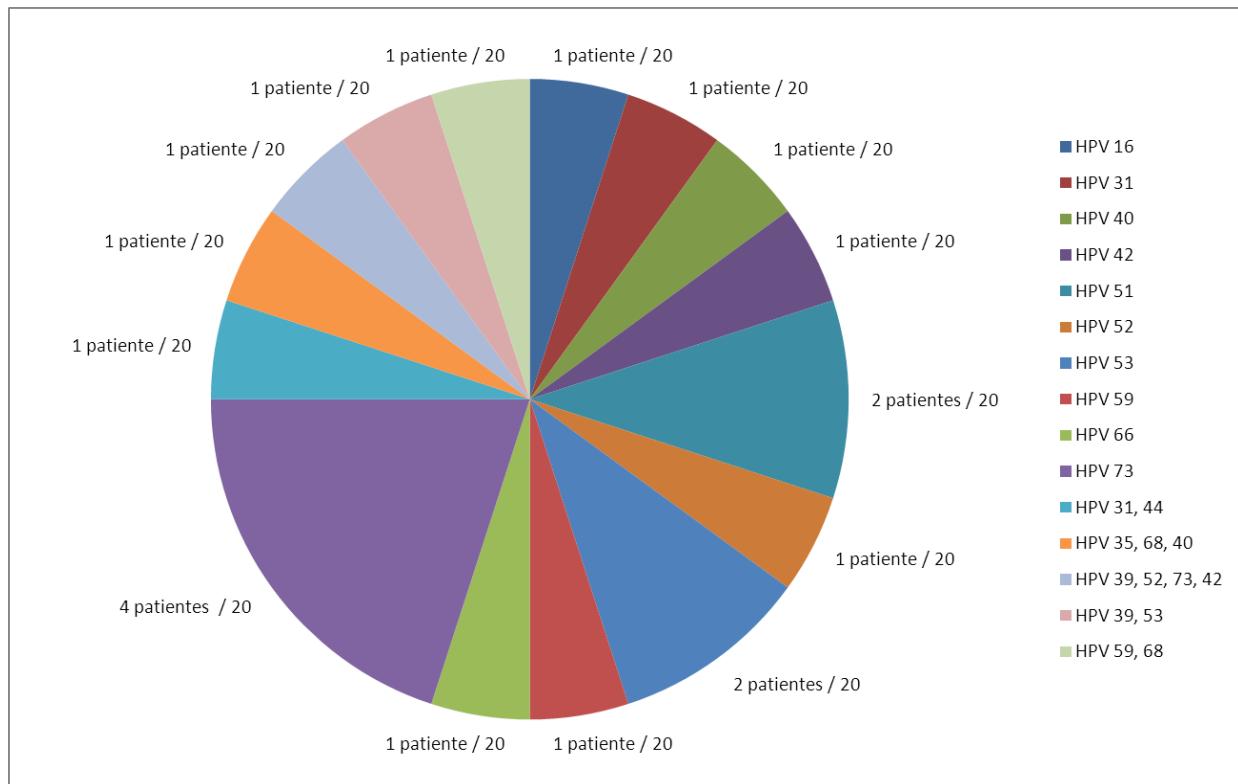


Figure 22 : Distribution des génotypes HPV Anyplex

Parmi les 350 patientes négatives, 339 l'étaient déjà (avec la technique Abbott) lors de la première campagne de dépistage, 8 étaient positives et sont devenues négatives, 2 avaient un prélèvement ininterprétable et 1 patiente, bien que contactée dès la première campagne de dépistage, n'a participé qu'à la deuxième.

Des problèmes techniques ont été rencontrés pour 84 des 370 prélèvements analysés par la technique Anyplex. Pour ces prélèvements, le signal du contrôle interne est faible ou n'a pas été détecté. Concernant les 5 prélèvements pour lesquels au moins l'un des 28 signaux HPV a été détecté malgré le problème de contrôle interne, ils ont été considérés comme positifs (ADN HPV détecté avec identification de génotype(s) mais autres génotypes potentiellement présents et non détectés). Concernant les 79 prélèvements pour lesquels aucun des 28 signaux HPV n'a été détecté en parallèle du problème de contrôle interne, ils ont été considérés invalides (problème de préparation, présence d'inhibiteurs, phénomène de

compétition). Ils auraient dû être ré-analysés mais ne l'ont pas été par manque de temps (mise à disposition du CFX96™ sur une période de temps limitée).

2.2. Comparaison Abbott/Anyplex

Sur les 370 prélèvements analysés à la fois par la technique Abbott et la technique Anyplex, 358 (96,76 %) ont présenté un résultat concordant entre les 2 PCR et 12 (3,24 %) ont présenté un résultat discordant (Tableau X).

Parmi les 12 prélèvements présentant un résultat discordant entre les 2 PCR (Tableau X) :

- 1 (0,27 %) était positif en Abbott (positif HPV HR autres en Abbott, HPV 18/39/51 détectés en INNO-LiPA®) et négatif en Anyplex, les génotypes 18, 39 et 51 étant normalement détectés par la technique Anyplex.
- 11 (2,97 %) étaient négatifs en Abbott et positifs en Anyplex, 8 présentant des génotypes détectés uniquement par la technique Anyplex (HPV 40, HPV 42, HPV 53 et HPV 73) et 3 présentant des génotypes normalement détectés par les 2 techniques (HPV 31, HPV 59 et HPV 66).

Tableau X : Comparaison Abbott/Anyplex

	Nombre	%
CONCORDANTS	358	96,76
DISCORDANTS	12	3,24
positifs Abbott, négatifs Anyplex	1	0,27
HPV HR autres	1	0,27
négatifs Abbott, positifs Anyplex	11	2,97
HPV 31	1	0,27
HPV 40	1	0,27
HPV 42	1	0,27
HPV 53	2	0,54
HPV 59	1	0,27
HPV 66	1	0,27
HPV 73	4	1,08
TOTAL	370	100

Tableau XI : Tableau de contingence Abbott/Anyplex

		Anyplex			
		Résultats	positifs	négatifs	Total
Abbott	positifs	9	1	10	
	négatifs	11	349	360	
	Total	20	350	370	

Le degré de concordance entre les techniques Abbott et Anyplex a été évalué par calcul du coefficient Kappa de Cohen (Tableau XI).

Le coefficient Kappa K est d'environ 0,59, ce qui traduit une concordance modérée entre les deux techniques.

À noter que parmi les 11 patientes négatives en Abbott et positives en Anyplex, des résultats de FCU ne sont disponibles que pour 3 d'entre elles (Tableau XII) :

- 1 patiente est positive à HPV HR (HPV 66) et présente un FCU avec anomalies de type ASC-US, elle est en cours de prise en charge ;
- 2 sont positives à HPV BR (HPV 40 et HPV 42) et présentent des FCU normaux réalisés, respectivement, après CapU1 et après CapU2.

3. Synthèse CapU1/CapU2

Tableau XII : Synthèse des patientes HPV+ CapU1/CapU2

Âge (années)	Abbott CapU1	FCU CapU1	Colposcopie	Traitement	FCU de contrôle	Abbott CapU2	Anyplex CapU2	FCU CapU2
63	HPV HR autres	normal						
64	HPV HR autres	normal						
49	HPV HR autres	normal						
49	HPV HR autres	normal						
55	HPV HR autres	normal						
58	HPV HR autres	normal						
48	HPV HR autres							
50	HPV HR autres		normale					
48	HPV HR autres	normal			négatif	négatif		
43	HPV HR autres	normal			négatif	HPV 42	normal*	
55	HPV HR autres	normal			négatif	négatif		
45	HPV HR autres	normal			négatif	négatif		
42	HPV HR autres	normal			HPV HR autres	HPV 39, 53		
45	HPV HR autres	normal			HPV HR autres	HPV 35, 68, 40		
47	HPV 18 + HPV HR autres	normal						
49	HPV 16 + HPV HR autres	normal						
42	HPV 16 + HPV HR autres	normal						
42	HPV 16 + HPV HR autres	normal						
55	HPV 16 + HPV HR autres	normal			négatif	négatif		
58	HPV 16	normal			négatif	négatif		
44	HPV HR autres	ASC-US	normale					
50	HPV HR autres	ASC-US	normale		normal	négatif	négatif	
55	HPV HR autres	ASC-US	CIN 1					
55	HPV HR autres	ASC-H						
50	HPV HR autres	LSIL	refus			HPV HR autres	négatif	
50	HPV HR autres	LSIL	CIN 3	hystérectomie totale				
64	HPV HR autres	HSIL	normale					
45	HPV HR autres	HSIL	CIN 3	amputation du col	normal			
58	HPV 16	HSIL	CIN 3	conisation		négatif	négatif	
63	négatif					HPV 16	HPV 16	normal
62	négatif					HPV HR autres	HPV 51	normal
63	négatif					HPV HR autres	HPV 39, 52, 73, 42	normal
63	négatif					HPV HR autres	HPV 52	normal
60	négatif	normal				HPV HR autres	HPV 51	
43	négatif					HPV HR autres	HPV 31, 44	normal
55	négatif					HPV HR autres	HPV 59, 68	normal
56	négatif					HPV HR autres		normal
64	négatif					négatif	HPV 59	
56	négatif	normal				négatif	HPV 66	ASC-US*
60	négatif					négatif	HPV 73	
55	négatif					négatif	HPV 73	
58	négatif					négatif	HPV 31	
65	négatif	normal				négatif	HPV 40	
41	négatif					négatif	HPV 53	
60	négatif					négatif	HPV 73	
63	négatif					négatif	HPV 53	
55	négatif					négatif	HPV 73	

*Italiques** : FCU réalisés après CapU2 suite à la mise en évidence d'une discordance entre les résultats Abbott et Anyplex

DISCUSSION

Dans le cadre de la généralisation du dépistage organisé à l'ensemble du territoire national, le Plan cancer 2014-2019 recommande de positionner la détection d'HPV HR sur auto-prélèvements comme une alternative pour les femmes ne répondant pas à l'invitation au FCU (22).

Concernant la réalisation de l'APV (choix du dispositif, modalités de transport), aucune recommandation n'a encore été émise. De nombreux dispositifs existent et ont été testés (écouvillons, brosses, tampons, lavages). Ils sont généralement placés dans un milieu de transport liquide. Une étude menée à Tours entre 2009 et 2011 a évalué la performance de l'APV sur écouvillon sec pour la détection d'HPV HR, comparé à l'APV sur écouvillon dans un milieu de transport liquide et au prélèvement cervical en milieu liquide réalisé par un clinicien. L'étude a été menée auprès de 722 femmes. Une concordance de 92,9 % et un coefficient Kappa de 0,81 ont été observés entre les résultats obtenus avec l'APV sur écouvillon sec et ceux obtenus avec l'APV sur écouvillon dans un milieu de transport liquide. Des résultats similaires ont été obtenus entre les deux types d'APV et le prélèvement cervical réalisé par un clinicien. Cette étude a donc montré que l'APV sur écouvillon sec était une méthode performante pour la détection d'HPV HR et pourrait s'avérer intéressant, notamment en termes de coût et de facilité de transport (32).

Depuis 2004, le laboratoire de virologie du CHU d'Angers réalise des travaux visant à montrer l'intérêt de la détection des HPV dans les urines par rapport au FCU, pour les femmes réticentes à cet examen dans le cadre du dépistage du CCU (33).

En 2004, une étude prospective multicentrique entre Angers, Brest, Poitiers et Limoges (étude PapU) avait été initiée avec pour objectif de comparer la détection de l'ADN HPV dans le prélèvement vaginal (PV) et dans les urines, en utilisant une technique de PCR TR mise au point au laboratoire (34). Cette étude avait montré une très bonne corrélation dans la détection de l'ADN HPV entre les deux types de prélèvement, avec une concordance de 90 % et un coefficient Kappa de 0,80. Elle avait également révélé qu'il existait une corrélation dans la mesure de la charge virale et dans le génotypage HPV entre les deux types de prélèvement, et que la sensibilité de détection des lésions cervicales à partir des urines était excellente (sensibilité de 97 % avec une VPN de 96 %). L'étude PapU a ainsi démontré que le test HPV urinaire pouvait constituer une alternative au FCU dans le dépistage du CCU (33).

En 2012 puis 2014, avec la mise en place du dépistage organisé du CCU dans le département du Maine-et-Loire, les études CapU1 et CapU2 ont permis d'évaluer l'intérêt de la recherche des HPV HR sur auto-prélèvement urinaire chez les patientes qui avaient refusé à deux reprises les incitations au FCU. L'étude CapU1 a confirmé l'intérêt du test HPV urinaire comme alternative au FCU puisque, sur les 771 prélèvements reçus au laboratoire, 29 femmes avaient un test HPV urinaire positif, 8 d'entre elles avaient un frottis pathologique et 3 CIN 3, confirmés à l'histologie, ont pu être pris en charge rapidement. 25 % des femmes ayant eu un test HPV négatif lors de CapU1 ont réalisé un FCU dans l'année suivante, la majorité d'entre eux étaient normaux (28). Parmi celles qui ont participé à CapU2, la majorité avait un test HPV urinaire négatif, confirmant l'excellente VPN de la détection des HPV HR dans les urines.

Cependant, pendant la même période, des réserves avaient été émises au niveau international quant à la fiabilité du test HPV urinaire. Des études ont démontré que la

sensibilité de détection des HPV HR, diminuée pour l'APV par rapport au FCU, serait encore plus diminuée pour les urines (Tableau XIII) (35),(36),(37). Une méta-analyse récente (38), reprenant 14 études soit un total de 1 443 femmes, confirmerait cette tendance avec une sensibilité poolée de détection des HPV HR dans les urines de 77 % et une sensibilité poolée de détection des HPV 16 et 18 de 73 % (à noter une meilleure spécificité poolée, respectivement 88 % et 98 %). En revanche, une hétérogénéité dans les modalités de recueil des urines a été mise en évidence entre les différentes études et une augmentation de sensibilité a été constatée lorsque la détection d'HPV était effectuée sur les urines du premier jet (Tableau XIII). Cette méta-analyse conclut donc que la détection d'HPV sur les urines, notamment les urines du premier jet, semble avoir une bonne efficacité clinique et pourrait donc constituer une alternative acceptable dans un contexte de rattrapage de femmes peu ou pas dépistées par les méthodes classiques (38). Une étude publiée il y a quelques mois a mis en évidence une diminution de la sensibilité de détection des lésions de haut grade avec les urines (recueillies de manière aléatoire au cours du jet), par rapport à l'APV et au prélèvement cervical réalisé par un clinicien (Tableau XIII) (37).

Mais plus récemment, une étude européenne (Leeman et al), dont les premiers résultats ont été présentés lors du congrès EUROGIN le 21 juin 2016 à Salzbourg en Autriche, délivre des conclusions un peu différentes. Cette étude a comparé la détection de lésions de haut grade par recherche d'HPV sur différents types de prélèvements, chez des femmes en attente d'une colposcopie du fait d'un FCU anormal. Les 91 femmes de l'étude ont effectué un APV, deux auto-prélèvements urinaires sur urines du premier jet (un le matin de l'intervention, un lors de la visite de l'après-midi), et un FCU réalisé par un praticien. Tous ces examens ont été conduits avant la réalisation de la colposcopie. Pour chaque femme, une recherche d'HPV a donc été effectuée sur les quatre prélèvements et comparée aux résultats de la biopsie. La

sensibilité de détection des lésions CIN2+ était de 96,4 % pour le FCU, de 92,9 % pour l'APV, de 92,9 % pour l'auto-prélèvement urinaire matinal et de 96,4 % pour le deuxième prélèvement urinaire, les différences n'étant pas statistiquement significatives (Tableau XIII). Concernant le génotypage HPV, une concordance importante, voire excellente, a été retrouvée entre les différents types de prélèvements. Ainsi, les auteurs concluent que la détection de lésions CIN2+ par la recherche d'HPV sur les urines du premier jet (quel que soit le moment de la journée où elles sont recueillies) semble faisable, la sensibilité étant identique à celle du FCU ou de l'APV.

Tableau XIII : Synthèse de plusieurs études évaluant les performances cliniques de la détection des HPV HR et des lésions de haut grade en fonction du type de prélèvement

	Patientes (nombre, statut histologique)	Recueil	Prélèvement urinaire				Prélèvement vaginal/ vulvaire				Prélèvement cervical							
			Prévalence HPV (%)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)	Prévalence HPV (%)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)	Prévalence HPV (%)	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)	
Leeman et al, 2016	91 CIN2+	1 ^{er} jet	matin	92,9	-	-	-	-	92,9	-	-	-	-	96,4	-	-	-	
			après-midi	96,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Stanczuk et al, BMJ, 2016 (37)	5318	CIN2+	aléatoire	11,6	63,1	89,8	-	-	94,6	85,4	-	-	97,7	87,3	-	-	-	
					50,7	89,7	-	-	16,6	95,8	84,8	-	14,7	98,6	86,4	-	-	
Sahasrabuddhe et al, JCM, 2014 (36)	72	CIN2+	1 ^{er} jet	58,3	80,8	53,3	50	82,8	-	92	40,5	47,9	89,5	96,2	40	48,1	94,7	
					90	45,9	21,4	96,8	72,1	100	32,8	18,8	100	73,6	100	31,1	19,2	100
Munoz et al, JCM, 2013 (39)	194	-	milieu de jet	63,9	68,6	21,2	68	20,1	-	-	-	-	-	70,1	57,2	19,1	64	15,1
Strauss et al, Eur J Epidemiol, 1999 (35)	136	-	milieu de jet	65,4	78	-	-	-	-	-	-	-	-	77,9	93	-	-	-

Se : Sensibilité ; Sp : Spécificité ; VPP : Valeur Prédictive Positive ; VPN : Valeur Prédictive Négative

Le principal intérêt de l'auto-prélèvement urinaire par rapport au FCU est la forte adhésion des femmes à ce prélèvement non invasif, facilement réalisable à domicile et ne nécessitant

pas une consultation chez un médecin ou un gynécologue. Les taux de participation enregistrés au cours de CapU1 et CapU2 étaient très satisfaisants avec, respectivement, 13,7 % et 55,86 % de réponses (28) (Tableau XIV).

En effet, le taux de participation de 13,7 % de CapU1 était comparable au taux de participation de 14,9 % observé au cours de trois campagnes expérimentales menées dans le département des Bouches-du-Rhône entre 2008 et 2010 (40). Ces trois études ciblaient des femmes non dépistées, ayant déjà refusé une première incitation au FCU. Elles pouvaient soit réaliser un FCU (deuxième incitation) soit une recherche d'HPV HR sur APV : 14,9 % ont répondu favorablement à la recherche d'HPV HR sur APV contre 4,9 % au FCU (Tableau XIV). Le taux de participation de CapU1 dépassait même le taux de participation global, par vague de relance, du programme de dépistage organisé expérimenté au niveau national, qui était d'environ 10 %.

D'autres études pilotes ont enregistré des résultats similaires, à savoir des taux de participation plus élevés en cas de dépistage basé sur la recherche d'HPV HR sur auto-prélèvements contre un dépistage classique par FCU (41),(42). Le taux de participation de CapU2, qui a quadruplé par rapport à CapU1 et dépassé les 50 %, s'explique par le fait que nous avons invité les femmes qui avaient déjà participé à CapU1. Il confirme l'acceptabilité d'un dépistage par auto-prélèvements pour les femmes. Ainsi, nos différentes études (CapU1 et CapU2) montrent que la recherche des HPV dans les urines pourrait constituer une alternative pour les femmes peu ou pas dépistées, en facilitant leur accès aux soins. Elle permettrait aussi probablement d'étendre la couverture du dépistage du CCU en France.

En ce qui concerne la prévalence des infections à HPV HR retrouvée dans CapU1 et CapU2, elle était plus faible que celle retrouvée dans la littérature à savoir 4,2 % et 2,96 % respectivement (28) (Tableau XIV).

L'étude de Tamalet et al, réalisée chez des femmes de 35 à 69 ans issues des quartiers nord de Marseille (faible niveau socio-économique, immigration), montrait une prévalence HPV HR de 14 % (43). L'étude de Sancho-Garnier et al réalisée quelques temps après chez une population semblable enregistrait une prévalence de 17,6 % (44). En revanche, une autre étude de Tamalet et al, ciblant cette fois-ci des femmes d'un niveau socio-économique moyen, rapportait une prévalence plus proche de celle de CapU, à savoir 6,6 % (40) (Tableau XIV). Le fait que les études CapU ne ciblaient pas uniquement les femmes provenant de milieux défavorisés, mais également des femmes n'ayant pas répondu aux incitations des FCU, pourrait expliquer ces prévalences plus faibles des infections à HPV HR. Les études du Centre national de référence (CNR) HPV ont également montré qu'il existait une disparité géographique des infections à HPV (45).

Ces taux de prévalence plus faibles pourraient aussi s'expliquer par le fait que la majorité des femmes invitées dans CapU1 et CapU2 étaient asymptomatiques. Comme le suggèrent Sehgal et al, la prévalence HPV dans les urines est plus élevée chez les femmes suivies pour des FCU anormaux que chez des femmes asymptomatiques soumises à un dépistage de routine (46). C'est ce que nous avons expérimenté dans l'étude PaPU, qui ciblait des femmes adressées en consultation de gynécologie au CHU pour FCU pathologiques : la prévalence des infections à HPV HR s'élevait à 42 % soit 10 fois supérieure à celle retrouvée dans CapU1 dans le même département (33) (Tableau XIV).

Il ne faut pas oublier que l'âge est un facteur à prendre en compte dans l'analyse des résultats de prévalence HPV. Il est actuellement admis qu'il existe un premier pic de prévalence HPV vers 20-25 ans, suivi d'une diminution progressive avec l'âge, avant un second pic de moindre importance vers 50 ans (10). La plus faible prévalence décrite dans CapU1 et CapU2 pourrait s'expliquer par l'âge plus avancé des femmes (40-65 ans). Au contraire, une partie des femmes étaient plus jeunes dans l'étude PaPU (18-65 ans) et la prévalence HPV HR était élevée (33).

Tableau XIV : Synthèse de cinq études

	Nombre de patientes	Âge (années)	Taux de participation (%)	Prévalence HPV (%)	Génotypage HPV		FCU			Colposcopie			
					HPV 16 (nombre, %)	HPV HR autres (nombre, %)	normaux	anormaux	Total	Normale	CIN1	CIN2+	Total
CapU2	372	40-65	55,86	2,96	1/11	10/11	7	-	7/11	-	-	-	-
Ducancelle et al, 2015 (CapU1) (28)	687	40-65	13,7	4,2	6/29 (21)	23/29 (79)	18	9	27/29	3	1	3	7/29
Ducancelle et al, 2014 (PaPU) (33)	230	18-55	-	42	48/148 (32)	68/148 (46)	34	196	230/230	-	-	-	-
Sancho-Garnier et al, 2013 (44)	1613	35-69	18,3	17,6	52/283 (18,4)	231/283 (81,6)	96	20	116/283	-	9	11	20/283
Tamalet et al, 2012 (40)	933	35-69	25,1	6,6	27/62 (43,5)	35/62 (56,5)	29	14	43/62	7	4	3	14/62
Tamalet et al, 2010 (43)	120	35-69	2,29	23,3	7/28 (25)	10/28 (36)	5	9	14/28	4	-	2	6/28

Les urines ne constituent pas le seul mode d'auto-prélèvement possible. Il en existe d'autres, et notamment l'APV. La performance clinique de ces APV par rapport au FCU n'était pas clairement établie, les données des différentes études réalisées sur le sujet étant très hétérogènes. Une méta-analyse récente, reprenant les résultats de 36 études avec un total de 154 556 femmes, a tenté d'évaluer cette performance clinique. Ainsi, selon Arbyn et al, l'APV est moins sensible que le FCU pour la détection des HPV HR, avec un ratio de sensibilité

relative de 0,88 chez les femmes présentant des lésions de type CIN2+ et un ratio de 0,89 chez les femmes présentant des lésions de type CIN3+. Cette diminution de sensibilité s'observe notamment lorsque la détection d'HPV HR est effectuée par une technique d'amplification du signal (Hybrid Capture 2® par exemple) et non par une technique d'amplification de la cible (Abbott RealTime High Risk HPV par exemple). En revanche, la détection d'HPV HR sur APV est aussi sensible, voire plus sensible, que la cytologie sur FCU pour la détection de lésions de haut grade, avec des ratios de sensibilité relative de 0,99, 1,14 et 1,19 respectivement, en comparaison avec une cytologie de type ASC-US chez les femmes CIN2+, une cytologie de type LSIL chez les femmes CIN2+ et chez les femmes CIN3+ (47).

La recherche d'HPV HR sur auto-prélèvements (APV, urines) comme alternative au FCU est une des nouvelles stratégies qui pourrait permettre d'augmenter la couverture du dépistage du CCU. D'autres stratégies sont à l'étude, toutes basées sur des preuves solides et de plus en plus nombreuses en faveur d'un dépistage basé sur la détection des HPV HR.

De nombreuses études montrent que la détection des HPV HR a une meilleure sensibilité que l'analyse cytologique du FCU pour détecter les lésions de haut grade chez les femmes de plus de 30 ans. Ronco et al ont réalisé une étude comparative randomisée chez des femmes âgées de 25 à 60 ans : 47 001 femmes avaient bénéficié d'un FCU et 47 369 femmes avaient bénéficié d'un test HPV HR, associé ou non à un FCU. Le test HPV HR s'est révélé plus sensible et plus précoce pour détecter des lésions de haut grade chez les femmes de plus de 35 ans, avec un ratio de sensibilité relative de 2 pour les CIN2+ et un ratio de 2,08 pour les CIN3+ (48). Lazcano-Ponce et al, ont comparé la détection d'HPV HR sur APV au FCU, chez des femmes mexicaines âgées de 25 à 65 ans et vivant dans des conditions socio-

économiques précaires. Leur étude a montré que la sensibilité relative de détection des CIN2+ du test HPV HR était 3 à 4 fois plus importante que celle du FCU (49).

La détection d'HPV HR présente également une excellente VPN, un test HPV HR négatif impliquerait une protection contre les CIN3+ sur le long terme. Une étude de cohorte européenne incluant 24 295 femmes a montré que le taux d'incidence cumulée de CIN3+ à 6 ans était extrêmement bas chez les femmes qui avaient un test HPV négatif (0,27 %), plus bas que chez celles qui avaient un FCU normal (0,97 %) (50). En ce qui concerne les études CapU, l'intervalle de temps entre les deux études a été de deux ans. La majorité des femmes avec un test HPV positif lors de CapU1 avaient un test HPV négatif lors de CapU2, résultant d'une clairance naturelle du virus dans un délai de 18 à 24 mois ou d'un geste thérapeutique. La plupart des femmes avec un test HPV négatif dans CapU1 avaient un test HPV négatif dans CapU2, ce qui confirme la forte VPN du test HPV urinaire vis-à-vis des lésions de haut grade.

En synthétisant les méta-analyses et revues de la littérature sur le sujet, Arbyn et al ont ainsi considéré que la détection d'HPV HR présentait des avantages dans trois situations : le triage des femmes ayant un FCU avec anomalies de type ASC-US ou des lésions de bas grade (CIN1), la surveillance thérapeutique des lésions de haut grade (CIN2/3), ou encore en dépistage primaire (seul ou combiné) chez les femmes de plus de 30 ans (51).

Le triage des femmes ayant un FCU avec anomalies de type ASC-US est aujourd'hui la seule indication du test HPV HR en France.

Concernant le triage des femmes ayant des lésions de bas grade, la détection de l'ADN des HPV HR présenterait une aussi bonne sensibilité que pour les ASC-US mais perdrat en spécificité. L'utilisation de techniques plus spécifiques (PCR combinant détection d'HPV HR et génotypage partiel, techniques détectant les ARNm) pourrait être intéressante.

Pour ce qui est du suivi post-thérapeutique des CIN2/3, les tests HPV HR sont plus sensibles et aussi spécifiques que le FCU. Le Conseil National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) recommande d'ailleurs « la pratique conjointe d'un contrôle cytologique et virologique » après traitement des CIN2+. Une étude récente suggère même que la détection d'HPV HR sur auto-prélèvements urinaires pourrait être envisagée comme une alternative dans le suivi de grandes cohortes de patientes (52).

Quant au dépistage primaire, en 2010 la HAS a jugé cette indication non pertinente du fait d'une moindre spécificité de la détection des HPV HR en comparaison au FCU, pouvant conduire à un sur-diagnostic et à un sur-traitement des CIN2+ susceptibles de régresser spontanément. Cependant de plus en plus d'études montrent les bénéfices à utiliser la détection d'HPV HR en dépistage primaire.

Ainsi, outre une meilleure sensibilité à détecter les CIN2+ et une excellente VPN qui permettrait d'allonger les délais entre deux dépistages, des essais européens (4 pays, 176 464 femmes âgées de 20 à 64 ans, suivies pendant en moyenne 6,5 ans) ont démontré que le dépistage primaire par test HPV offrait une protection 60 à 70 % plus importante contre la survenue de CIN3+ ou de cancers invasifs que la cytologie. Des estimations ont été faites grâce aux données récoltées : le dépistage primaire par détection d'HPV HR

concernerait les femmes de plus de 30 ans et serait réalisé à intervalles réguliers de minimum cinq ans (53).

Plusieurs pays ont décidé d'adopter cette stratégie et proposent désormais la détection d'HPV HR en dépistage primaire associée ou non au FCU. Le Canada, la Finlande et les Pays-Bas proposent le test HPV en première intention dans le dépistage du CCU : en Finlande, il est indiqué en dépistage primaire chez les femmes de 35 à 65 ans à intervalles de cinq ans, le FCU intervenant dans le triage des femmes ayant un test HPV positif ; au Canada (province de l'Ontario), ce dépistage primaire est proposé aux femmes de 30 à 65 ans tous les cinq ans ; aux Pays-Bas, il concerne les femmes de 30 à 60 ans tous les cinq ans (54). Les États-Unis ont publié de nouvelles recommandations en 2012 : les ASCCP (*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology Guidelines*). Chez les femmes de moins de 30 ans (21-29 ans), il est encore recommandé de réaliser en première intention un FCU seul à intervalles de trois ans, l'association FCU/ test HPV pouvant être proposée dans certaines circonstances. Chez les femmes de plus de 30 ans (30-65 ans), l'association FCU/ test HPV à intervalles de cinq ans est proposée d'emblée. Le génotypage HPV est également mentionné dans ces nouvelles recommandations, en tant qu'alternative au FCU pour le triage des femmes de plus de 30 ans ayant un test HPV positif avec un FCU normal (55).

À l'heure actuelle, en France, il n'existe aucune indication officielle au génotypage, même si de nombreuses études ont démontré que le risque de développer des lésions de haut grade ou des cancers invasifs était majoré avec certains génotypes d'HPV, notamment l'HPV 16, et dans une moindre mesure l'HPV 18 (56).

Dans CapU2, une prédominance des HPV HR autres que les HPV 16 et 18 a été mise en évidence. Sur les 11 patientes avec un test HPV HR positif, une seule présentait une infection à HPV 16, les 10 autres étant infectées par des HPV HR autres. Cette constatation avait déjà été faite lors de CapU1 (Tableau XIV).

Dans l'étude PapU, où une grande proportion de femmes avait un FCU anormal (66 %), le génotype HPV le plus fréquemment retrouvé était l'HPV 16 (33). Au contraire, dans CapU1 et CapU2, où la majorité des femmes présentaient des FCU normaux ou avec des lésions de bas grade, les HPV HR autres étaient les plus fréquents (Tableau XIV). Ces résultats rejoignent ceux d'une étude réalisée par le CNR HPV. En effet, Heard et al ont constaté que la prévalence des infections à HPV 16 et/ ou 18 augmentait avec le grade du FCU et que, pour les FCU normaux ou avec des lésions de types ASC-US ou LSIL, les HPV HR autres étaient plus fréquemment retrouvés (45).

Un génotypage plus précis des HPV a été réalisé au cours de CapU2 afin d'évaluer leur distribution dans cette population. Ainsi, les prélèvements positifs à HPV HR autres avec la technique Abbott RealTime High Risk HPV (qui détecte 14 HPV HR mais ne génotype que les HPV 16 et 18) ont été analysés dans un second temps avec la technique INNO-LiPA®. Dans CapU2, parmi les HPV HR autres, les génotypes les plus fréquemment retrouvés étaient les HPV 39, 51, 52 et 74. Selon Heard et al, l'HPV 51 est le deuxième génotype le plus fréquemment retrouvé chez les femmes présentant un FCU normal et le troisième chez celles présentant un FCU avec anomalies de type HSIL (45).

Au cours de l'étude CapU2, nous avons pu évaluer la trousse de PCR TR, Anyplex™ II HPV28 Detection, qui combine la détection et le génotypage de 28 HPV (parmi lesquels des HPV HR

et des HPV BR). La prévalence d'infections à HPV était plus élevée qu'avec la technique Abbott. Sur les 20 patientes avec un test HPV positif, une seule présentait une infection à HPV 16. Les génotypes les plus fréquemment retrouvés chez les 19 autres patientes étaient les HPV 73 et 53. Si la trousse Anyplex a été choisie par le laboratoire pour être évaluée en parallèle de la trousse Abbott, c'est parce que l'HPV 53 fait partie des génotypes qu'elle détecte. L'HPV 53 semble en effet être le génotype le plus fréquemment retrouvé après l'HPV 16 chez les femmes présentant un FCU normal ou avec des lésions de type LSIL dans l'Ouest de la France, comme le suggèrent Vaucel et al (57). Selon l'étude du CNR HPV, il est le deuxième génotype le plus fréquemment détecté chez les femmes présentant un FCU avec anomalies de types ASC-US, ainsi que chez les femmes avec un CCU (au même titre que l'HPV 66) (45). En revanche, les deux études relatent que sa prévalence diminue chez les femmes présentant un FCU avec anomalies de type HSIL.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Actuellement, la couverture du dépistage du CCU en France est insuffisante. Afin d'y remédier, et face aux résultats encourageants obtenus par les programmes de dépistage organisé expérimentés dans 13 départements français depuis 2010, le Plan cancer 2014-2019 prévoit une généralisation du dépistage organisé à l'ensemble du territoire national.

Dans ce contexte, les études CapU1 et CapU2 nous fournissent des résultats préliminaires plutôt encourageants sur une éventuelle alternative au dépistage classique du CCU. En confirmant l'acceptabilité du test HPV urinaire chez les femmes réticentes à la réalisation du FCU, et en rassurant quant aux performances de ce test à détecter des lésions de haut grade, elles en font un moyen supplémentaire pour augmenter la couverture du dépistage.

À noter que le financement d'une nouvelle campagne de dépistage, ciblant 13 000 femmes âgées de 25 à 65 ans et n'ayant pas réalisé de FCU depuis 2010, vient d'être accordé au laboratoire de virologie du CHU d'Angers et à Cap santé 49. Cette campagne, qui débutera en octobre prochain, permettra d'évaluer le test HPV urinaire sur un plus large effectif de femmes que dans les études précédentes et sur une tranche d'âge plus importante (25-65 ans versus 40-65 ans).

L'ensemble des Agences régionales de santé (ARS) et des structures de gestion des dépistages de cancer a reçu, courant juin 2016, une instruction émanant de la Direction générale de la santé (DGS) et du ministère des Affaires sociales et de la Santé. Cette instruction a pour objectif de définir les modalités de désignation d'une structure régionale de préfiguration unique dans le cadre de la généralisation du dépistage organisé du CCU, sur la

base d'un cahier des charges établi par l'Institut national du cancer (INCa). Ce cahier des charges développe un certain nombre de points, notamment les rôles de la structure régionale de préfiguration, la population cible du dépistage organisé, les stratégies d'invitation, la réalisation du FCU et l'interprétation et rendu des résultats selon le système de Bethesda 2014. Faisant partie des sites d'expérimentation du dépistage organisé depuis quelques années, Cap santé 49 a présenté sa candidature au statut de structure régionale de préfiguration en Pays de la Loire.

Force est de constater que, conformément à ce qui avait été annoncé, le déploiement progressif du dépistage organisé à l'échelle nationale a débuté. Il s'agit là d'une avancée importante car, dans un pays où sont encore recensés chaque année plus de 1 000 décès et 3 000 nouveaux cas de CCU, la lutte contre les inégalités d'accès et de recours au dépistage doit demeurer une priorité.

BIBLIOGRAPHIE

1. Alain S, Hantz S, Denis F. Papillomavirus: les virus et la physiopathologie de l'infection. Médecine Thérapeutique Pédiatrie. 1 janv 2010;13(1):5-19.
2. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, et al. The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses. Vaccine. 20 nov 2012;30, Supplement 5:F55-70.
3. de Villiers E-M, Fauquet C, Broker TR, Bernard H-U, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology. 20 juin 2004;324(1):17-27.
4. Beby-Defaux A, Dalstein V, Agius G. Papillomavirus humains (HPV). In: Société française de microbiologie, Section de Microbiologie clinique, Groupe Rémic, Bourlet T, Courcol R, Herrmann J-L, et al., éditeurs. Rémic: référentiel en microbiologie médicale. Paris: Société française de microbiologie; 2015. p. 705-10.
5. IARC Monographs - Classifications - Agents classified by the IARC Monographs, volumes 1-116 [Internet]. Disponible sur: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/>
6. Zuna RE, Wang SS, Schiffman M, Solomon D, for the Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group. Comparison of human papillomavirus distribution in cytologic subgroups of low-grade squamous intraepithelial lesion. Cancer Cytopathol. 25 oct 2006;108(5):288-97.
7. Ferlay J, Shin H-R, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 15 déc 2010;127(12):2893-917.
8. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, et al. Global Burden of Human Papillomavirus and Related Diseases. Vaccine. 20 nov 2012;30, Supplement 5:F12-23.
9. Gillison ML, Castellsagué X, Chaturvedi A, Goodman MT, Snijders P, Tommasino M, et al. Eurogin Roadmap: Comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. Int J Cancer. 1 févr 2014;134(3):497-507.
10. Bruni L, Diaz M, Castellsagué M, Ferrer E, Bosch FX, Sanjosé S de. Cervical Human Papillomavirus Prevalence in 5 Continents: Meta-Analysis of 1 Million Women with Normal Cytological Findings. J Infect Dis. 15 déc 2010;202(12):1789-99.
11. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. The Lancet. 14 sept 2007;370(9590):890-907.
12. Haute Autorité de Santé - Dépistage et prévention du cancer du col de l'utérus - Actualisation du référentiel de pratiques de l'examen périodique de santé (EPS) - juin 2013 [Internet]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1623735/fr/depistage-et-prevention-du-cancer-du-col-de-l-uteras

13. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, et al. Rapid Clearance of Human Papillomavirus and Implications for Clinical Focus on Persistent Infections. *J Natl Cancer Inst.* 2 avr 2008;100(7):513-7.
14. Duport N, Heard I, Barré S, Woronoff A-S. Le cancer du col de l'utérus: état des connaissances en 2014. *Bull Epidémiol Hebd.* 20 mai 2014;(13-14-15):220-1.
15. Woronoff A-S, Trétarre B, Guizard A, Arveux P. Col de l'utérus. In: Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012: étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2013. p. 56-60.
16. Poljak M, Kocjan BJ, Oštrbenk A, Seme K. Commercially available molecular tests for human papillomaviruses (HPV): 2015 update. *J Clin Virol.* mars 2016;76, Supplement 1:S3-13.
17. Schiller JT, Davies P. Delivering on the promise: HPV vaccines and cervical cancer. *Nat Rev Microbiol.* avr 2004;2(4):343-7.
18. Berzofsky JA, Ahlers JD, Janik J, Morris J, Oh S, Terabe M, et al. Progress on new vaccine strategies against chronic viral infections. *J Clin Invest.* 16 août 2004;114(4):450-62.
19. HCSP. Infections à HPV des jeunes filles: révision de l'âge de vaccination [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2012 sept. Disponible sur: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=302>
20. HCSP. Infections à HPV: nouveau schéma vaccinal du vaccin Cervarix® [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2014 févr. Disponible sur: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=411>
21. HCSP. Infections à HPV: nouveau schéma vaccinal du vaccin Gardasil® [Internet]. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2014 mars. Disponible sur: <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=416>
22. Plan cancer 2014-2019: priorités et objectifs - Plan cancer | Institut National Du Cancer [Internet]. Disponible sur: <http://www.e-cancer.fr/Plan-cancer/Plan-cancer-2014-2019-priorites-et-objectifs>
23. Haute Autorité de Santé - État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus en France - Recommandations en Santé Publique - juillet 2010 [Internet]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1009772/fr/etat-des-lieux-et-recommandations-pour-le-depistage-du-cancer-du-col-de-l-uterus-en-france
24. Haute Autorité de Santé - Conduite à tenir devant un frottis anormal du col de l'utérus - 2002 [Internet]. Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_469254/fr/conduite-a-tenir-devant-un-frottis-anormal-du-col-de-l-uterus
25. Woronoff A-S, Trétarre B, Champenois V, Duport N, Bara S, Lapôtre-Ledoux B. Surveillance des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus par les

registres des cancers du réseau Francim. Bull Epidémiol Hebd. 20 mai 2014;(13-14-15):234-40.

26. Garnier A, Brindel P. Les programmes de dépistage organisé du cancer du col de l'utérus en Europe: état des lieux en 2013. Bull Epidémiol Hebd. 20 mai 2014;(13-14-15):222-7.
27. Duport N, Salines E, Grémy I. Premiers résultats de l'évaluation du programme expérimental de dépistage organisé du cancer du col de l'utérus, France, 2010-2012. Bull Epidémiol Hebd. 20 mai 2014;(13-14-15):228-34.
28. 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. sept 2015;71(3):377-84.
29. Reiser J. Le test HPV urinaire proposé comme alternative au frottis cervico-utérin: étude pilote dans le département du Maine-et-Loire. [Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie]. Nantes; 2013.
30. Products by Disease and Technology | Abbott Molecular [Internet]. Disponible sur: <https://www.abbottmolecular.com/products.html>
31. Seegene - Core Technology - TOCETM Technology [Internet]. Disponible sur: http://www.seegene.com/neo/en/introduction/core_toce.php
32. Haguenoer K, Giraudeau B, Sengchanh S, Gaudy-Graffin C, Boyard J, De Pinieux I. Performance de l'auto-prélèvement vaginal sec pour la détection des infections à papillomavirus à haut risque oncogène dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus: une étude transversale. Bull Epidémiol Hebd. 20 mai 2014;(13-14-15):248-54.
33. Ducancelle A, Legrand MC, Pivert A, Veillon P, Guillou-Guillemette HL, Brux MAD, et al. Interest of Human Papillomavirus DNA quantification and genotyping in paired cervical and urine samples to detect cervical lesions. Arch Gynecol Obstet. 13 mars 2014;290(2):299-308.
34. Payan C, Ducancelle A, Aboubaker MH, Caer J, Tapia M, Chauvin A, et al. Human Papillomavirus Quantification in Urine and Cervical Samples by Using the Mx4000 and LightCycler General Real-Time PCR Systems. J Clin Microbiol. mars 2007;45(3):897-901.
35. Strauss S, Jordens JZ, McBride D, Sonnex C, Edwards S, Desselberger U, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in paired urine and cervical scrapes. Eur J Epidemiol. 15(6):537-43.
36. Sahasrabuddhe VV, Gravitt PE, Dunn ST, Brown D, Allen RA, Eby YJ, et al. Comparison of Human Papillomavirus Detections in Urine, Vulvar, and Cervical Samples from Women Attending a Colposcopy Clinic. J Clin Microbiol. 1 janv 2014;52(1):187-92.
37. Stanczuk G, Baxter G, Currie H, Lawrence J, Cuschieri K, Wilson A, et al. Clinical validation of hrHPV testing on vaginal and urine self-samples in primary cervical screening (cross-sectional results from the Papillomavirus Dumfries and Galloway—PaVDaG study). BMJ Open [Internet]. 25 avr 2016;6(4). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4854001/>

38. Pathak N, Dodds J, Zamora J, Khan K. Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: systematic review and meta-analysis. *The BMJ* [Internet]. 16 sept 2014;349. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4166201/>
39. Munoz M, Camargo M, Leon SCS-D, Sanchez R, Pineda-Peña AC, Perez-Prados A, et al. Classical Molecular Tests Using Urine Samples as a Potential Screening Tool for Human Papillomavirus Detection in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women. *J Clin Microbiol*. 11 janv 2013;51(11):3688-93.
40. Tamalet C, Le Retraite L, Leandri F-X, Heid P, Garnier HS, Piana L. Vaginal self-sampling is an adequate means of screening HR-HPV types in women not participating in regular cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect*. janv 2013;19(1):E44-50.
41. Zehbe I, Moeller H, Severini A, Weaver B, Escott N, Bell C, et al. Feasibility of self-sampling and human papillomavirus testing for cervical cancer screening in First Nation women from Northwest Ontario, Canada: a pilot study. *BMJ Open* [Internet]. 26 févr 2011;1(1). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3191400/>
42. Gök M, Heideman DAM, van Kemenade FJ, Berkhof J, Rozendaal L, Spruyt JWM, et al. HPV testing on self collected cervicovaginal lavage specimens as screening method for women who do not attend cervical screening: cohort study. *The BMJ* [Internet]. 11 mars 2010;340. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2837143/>
43. Tamalet C, Richet H, Carcopino X, Henry M, Leretraite L, Heid P, et al. Testing for human papillomavirus and measurement of viral load of HPV 16 and 18 in self-collected vaginal swabs of women who do not undergo cervical cytological screening in Southern France. *J Med Virol*. 1 août 2010;82(8):1431-7.
44. Sancho-Garnier H, Tamalet C, Halfon P, Leandri F x., Retraite LL, Djoufekit K, et al. HPV self-sampling or the Pap-smear: A randomized study among cervical screening nonattenders from lower socioeconomic groups in France. *Int J Cancer*. 1 déc 2013;133(11):2681-7.
45. Heard I, Tondeur L, Arowas L, Falguières M, Demazoin M-C. Distribution des papillomavirus humains (HPV) dans des frottis effectués dans le cadre du dépistage organisé du cancer du col de l'utérus en France. *Bull Epidémiol Hebd*. 20 mai 2014;(13-14-15):241-8.
46. Sehgal A, Gupta S, Parashari A, Sodhani P, Singh V. Urine HPV-DNA detection for cervical cancer screening: prospects and prejudices. *J Obstet Gynaecol J Inst Obstet Gynaecol*. oct 2009;29(7):583-9.
47. Arbyn M, Verdoort F, Snijders PJF, Verhoef VMJ, Suonio E, Dillner L, et al. Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis. *Lancet Oncol*. févr 2014;15(2):172-83.
48. Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Palma PD, Del Mistro A, et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. mars 2010;11(3):249-57.

49. Lazcano-Ponce E, Lorincz AT, Cruz-Valdez A, Salmerón J, Uribe P, Velasco-Mondragón E, et al. Self-collection of vaginal specimens for human papillomavirus testing in cervical cancer prevention (MARCH): a community-based randomised controlled trial. *The Lancet*. 2 déc 2011;378(9806):1868-73.
50. Dillner J, Reboul M, Birembaut P, Petry K-U, Szarewski A, Munk C, et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *The BMJ* [Internet]. 13 oct 2008;337. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2658827/>
51. Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJLM, Poljak M, Ogilvie G, et al. Evidence Regarding Human Papillomavirus Testing in Secondary Prevention of Cervical Cancer. *Vaccine*. 20 nov 2012;30, Supplement 5:F88-99.
52. Vorsters A, Van Keer S, Biesmans S, Hens A, De Coster I, Goossens H, et al. Long-Term Follow-up of HPV Infection Using Urine and Cervical Quantitative HPV DNA Testing. *Int J Mol Sci* [Internet]. 17 mai 2016;17(5). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4881571/>
53. Ronco G, Dillner J, Elfström KM, Tunesi S, Snijders PJF, Arbyn M, et al. Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials. *The Lancet*. 14 févr 2014;383(9916):524-32.
54. Castle PE, de Sanjosé S, Qiao Y-L, Belinson JL, Lazcano-Ponce E, Kinney W. Introduction of Human Papillomavirus DNA Screening in the World: 15 Years of Experience. *Vaccine*. 20 nov 2012;30, Supplement 5:F117-22.
55. Guidelines - ASCCP - The Updated Consensus Guidelines on the Management of Women with Abnormal Cervical Cancer Screening Tests and Cancer Precursors - Management Guidelines, Algorithms - 2013 [Internet]. Disponible sur: <http://www.asccp.org/guidelines>
56. Castle PE, Stoler MH, Wright Jr TC, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol*. sept 2011;12(9):880-90.
57. Vauzel E, Coste-Burel M, Laboisson C, Dahlab A, Lopes P. Human papillomavirus genotype distribution in cervical samples collected in routine clinical practice at the Nantes University Hospital, France. *Arch Gynecol Obstet*. oct 2011;284(4):989-98.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Génome du virus (2)	4
Figure 2 : Fréquence de distribution des génotypes d'HPV en fonction du pourcentage d'homologie de la séquence nucléotidique du gène codant L1 (3)	5
Figure 3 : Arbre phylogénétique des HPV (2).....	6
Figure 4 : Cycle viral des HPV (2)	8
Figure 5 : Schéma d'une infection productive à HPV (2)	9
Figure 6 : Koïlocytes (6).....	10
Figure 7 : Réponse immunitaire déclenchée par une infection à HPV (1).....	11
Figure 8 : De l'infection productive au cancer (2)	12
Figure 9 : Évolution de l'incidence et de la mortalité des infections à HPV en France entre 1980 et 2012 (15).....	19
Figure 10 : Principe de l'élaboration des vaccins anti-HPV (18)	23
Figure 11 : Action 1.2. du Plan cancer 2014-2019 (22)	25
Figure 12 : Conduite à tenir en cas de FCU avec anomalies de type ASC-US (24)	27
Figure 13 : Taux d'incidence standardisés des lésions précancéreuses et des cancers invasifs du col de l'utérus en France entre 2000 et 2009 (25)	28
Figure 14 : Action 1.1. du Plan cancer 2014-2019 (22)	32
Figure 15 : Plateforme Abbott <i>m</i> 2000 (30).....	39
Figure 16 : Principe de la détection par fluorescence en temps réel Abbott RealTime High Risk HPV (30).....	44
Figure 17 : Principe de la technologie TOCE™ (31).....	51
Figure 18 : Ajustement du <i>catcher</i> (31).....	52
Figure 19 : Principe de la cCMTA (31).....	53

Figure 20 : Détails sur la participation à CapU2	56
Figure 21 : Distribution des génotypes HPV Abbott/INNO-LiPA®	59
Figure 22 : Distribution des génotypes HPV Anyplex	63

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Classification des HPV en fonction de leur oncogénicité (4),(5).....	6
Tableau II : Classification des anomalies cytologiques observées au FCU (12).....	17
Tableau III : Programmes nationaux de dépistage organisé en Europe (26).....	29
Tableau IV : Taux de couverture vaccinale et de participation des programmes expérimentaux de dépistage organisé mis en place dans 13 départements en France (27) ..	31
Tableau V : Prévalence HPV 40-65 ans	57
Tableau VI : Incidence HPV 40-65 ans.....	57
Tableau VII : Suivi des patientes HPV+ CapU2	61
Tableau VIII : Prévalence HPV 40-65 ans Anyplex.....	62
Tableau IX : Incidence HPV 40-65 ans Anyplex.....	62
Tableau X : Comparaison Abbott/Anyplex	64
Tableau XI : Tableau de contingence Abbott/Anyplex	65
Tableau XII : Synthèse des patientes HPV+ CapU1/CapU2	66
Tableau XIII : Synthèse de plusieurs études évaluant les performances cliniques de la détection des HPV HR et des lésions de haut grade en fonction du type de prélèvement	70
Tableau XIV : Synthèse de cinq études.....	73

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
GÉNÉRALITÉS.....	3
1. Structure du virus	3
2. Classification des HPV.....	5
3. Physiopathologie de l'infection à HPV	7
3.1. Tropisme cellulaire	7
3.2. Cycle viral (1),(2)	7
3.3. Histoire naturelle de l'infection à HPV (1),(2)	8
3.3.1. Infection productive	8
3.3.2. Régression immunitaire	10
3.3.3. Clairance virale/Latence virale	11
3.3.4. Infection persistante et transformation	12
4. Épidémiologie et manifestations cliniques des infections à HPV (4)	14
4.1. Peau	15
4.2. Muqueuse des VADS.....	15
4.3. Muqueuse ano-génitale.....	16
5. Diagnostic virologique (4).....	19
5.1. Techniques d'amplification du signal	20
5.2. Techniques d'amplification de la cible.....	21
5.2.1. Amplification de l'ADN viral	21
5.2.2. Amplification de l'ARN messager (ARNm) viral	22
6. Prévention des infections à HPV.....	22
6.1. Prévention primaire : la vaccination.....	22
6.2. Prévention secondaire : le dépistage.....	26
6.2.1. Dépistage individuel	26
6.2.2. Dépistage organisé	28
6.2.3. Nouvelles stratégies de dépistage.....	33
CONTEXTE DE L'ÉTUDE CAPU2	35
1. Rappels de l'étude CapU1.....	35
2. Objectifs de l'étude CapU2	36
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	37
1. Population étudiée	37
2. Modalités de l'étude	37
3. Détection des HPV dans les urines (30)	38
3.1. Principes biologiques de la technique	39
3.2. Phase pré-analytique	40
3.3. Extraction	41
3.4. Assemblage de la plaque de réaction	41
3.5. Amplification	42
3.6. Détection.....	43
3.7. Rendu des résultats	44
3.8. Validation de la série	45

3.9.	Test INNO-LiPA® HPV Genotyping Extra (Innogenetics)	46
4.	Anyplex™ II HPV28 Detection (Seegene) (31)	47
4.1.	Principes biologiques de la technique	48
4.2.	Phase pré-analytique	48
4.3.	Extraction	49
4.4.	Assemblage des barrettes de réaction	49
4.5.	Amplification	49
4.6.	Détection	50
4.7.	Rendu des résultats	52
4.8.	Validation de la série	54
RÉSULTATS.....		55
1.	Abbott RealTime High Risk HPV	55
1.1.	Taux de participation	55
1.2.	Prévalence et incidence HPV	56
1.3.	Génotypage HPV	58
1.4.	Suivi virologique des patientes HPV+ CapU1	59
1.5.	Suivi gynécologique des patientes HPV+ CapU2	60
2.	Comparaison de méthodes	61
2.1.	Anyplex™ II HPV28 Detection	61
2.2.	Comparaison Abbott/Anyplex	64
3.	Synthèse CapU1/CapU2	66
DISCUSSION		67
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....		80
BIBLIOGRAPHIE.....		82
LISTE DES FIGURES.....		87
LISTE DES TABLEAUX		89
TABLE DES MATIÈRES.....		90
ANNEXES.....		I
1.	Annexe 1 : notice explicative pour la réalisation de l'auto-prélèvement urinaire à domicile (fournie avec le kit)	I
2.	Annexe 2 : exemple de rapport de résultats Abbott.....	II
3.	Annexe 3 : exemple de rapport de résultats Anyplex.....	III

ANNEXES

1. Annexe 1 : notice explicative pour la réalisation de l'auto-prélèvement urinaire à domicile (fournie avec le kit)

Comment réaliser votre prélèvement d'urine ?

Etape 1 : vérifier le contenu de l'enveloppe

1 Lettre T à renvoyer au CHU
1 enveloppe à bulle

1 flacon de prélèvement

CHU Angers Laboratoire de virologie Enveloppe à bulles Flacon de prélèvement

1 formulaire de consentement que **vous devez SIGNER**
1 questionnaire que **vous devez REMPLIR**
1 lettre d'information que **vous devez LIRE**
1 étiquette pré-remplie avec vos nom et prénom

Etape 2 : faire le prélèvement d'urine selon les recommandations suivantes

1 Laver soigneusement vos mains
Remplir le flacon avec le 1^{er} jet de vos urines du matin. Essuyer soigneusement le flacon et bien visser le bouchon.

2 Coller l'étiquette avec vos nom, prénom et date de naissance sur le flacon propre et sec.
Indiquez la **date du prélèvement**

3 Mettre le FLACON REMPLI **étiqueté** dans l'enveloppe à bulles. Insérer l'enveloppe à bulles dans l'enveloppe T

4 Avant de fermer l'enveloppe T, ne pas oublier de joindre le consentement signé et le questionnaire rempli

5 Adresser le tout au laboratoire de virologie du CHU d'Angers par voie postale

CHU Angers Laboratoire de virologie Enveloppe à bulles Flacon de prélèvement Personne qui coller l'étiquette Enveloppe T La Poste

NB : Evitez les envois le dimanche et jour férié. Au besoin, garder le tube d'urine au réfrigérateur avant l'envoi si celui-ci est reporté au lendemain
(Si vous souhaitez obtenir des informations complémentaires concernant ce protocole, vous pouvez contacter le laboratoire de virologie du CHU d'Angers au 02.41.35.54.35).

TEST GRATUIT. SVP, ENVOYEZ VOTRE PRELEVEMENT AVANT LE 20/12/12

La notice utilisée lors de CapU2 était identique à celle utilisée lors de CapU1 (cf ci-dessus).

2. Annexe 2 : exemple de rapport de résultats Abbott

Rapport de liste des résultats m2000rt

N° de série appareil: 275020519

ID utilisateur: PEIMAR

Nom application m2000rt: 0.4ml HR HPV

Version application m2000rt: 2.00

Heure de fin de l'analyse: 02/10/2014 18:26:43

Nom de l'application pour extraction échantillon: 0.4ml HR HPV

Version de l'application pour extraction échantillon: 2.00

Nom application d'ajout de réactif: 0.4ml HR HPV

Version application d'ajout de réactif: 2.00

Nom de la plaque: HPV0210API

Nom de plaque à puits profonds: HPV0210API

Lot réactif pour extraction échantillon: 10574591

Péremption réactifs d'extraction échantillon: aout 2015

Heure de fin pour extraction échantillon: 02/10/2014 15:17:54

Heure de fin de l'ajout master mix: 02/10/2014 16:01:35

Dosage: HR HPV

Lot/Péremption contrôle: 42499LI00 / 11/09/2015

Concentrations/niveaux contrôle: HPV_NEG / HPV_POS /

Puits	ID échantillon	Nom du dosage	Lot dosage Péremption	Type d' échantillon	Résultat/unité Interprétation	Alarmes	Code
A1	HPV_NEG	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Control	Passed		
B1	HPV_POS	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Control	Passed		
C1	URINE44	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Patient	Other HR HPV (30,37) HR HPV Detected		
D1	URINE45	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Patient		4952	
E1	URINE46	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Patient	Not Detected Not Detected		
F1	URINE47	HR HPV	35860LI00 25/04/2015	Patient	Not Detected Not Detected		

Date d'impression: 03/10/2014 08:31:16

m2000™

Page 1 of 4

3. Annexe 3 : exemple de rapport de résultats Anyplex

Anyplex™ II HPV28 Detection (8 strip)

N° échantillon	Id patient	Pvit	Nom	Type	PAW			HeX			Cal Med 810			Cluster 8TU			Cluster 7TU			Auto. Interpretation	commentaire
					66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC		
		A01	NEG	NC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Negative Control(-)		
					26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
		B01	PC1	PC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	Positive Control	
					26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
		C01	PC2	PC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	Positive Control	
					-	***	-	-	***	-	-	***	-	***	-	-	***	-	-		
		C07	PC2	PC	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	***	-	-	***	-	-	***	-	***	-	-	***	-	-		
		D01	PC3	PC	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	Positive Control	
					-	-	***	-	-	***	-	-	***	-	***	-	-	***	-		
		D07	PC3	PC	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	***	-	-	***	-	-	***	-	***	-	-	***	-		
		A02	14018251101	SAMPLE	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	Invalid	
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		A08	14018251101	SAMPLE	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		B02	14018251201	SAMPLE	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC		
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		B08	14018251201	SAMPLE	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		C02	14018251401	SAMPLE	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	-	
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		C08	14018251401	SAMPLE	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		D02	14018251601	SAMPLE	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	39,53	
					-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+			
		D08	14018251601	SAMPLE	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+			
		E02	1401829301	SAMPLE	66	45	58	51	59	16	33	39	52	35	18	56	68	31	IC	Invalid	
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			
		E08	1401829301	SAMPLE	26	69	73	42	82	53	43	54	70	61	6	44	40	11	IC		
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+			

CHENOUARD Rachel**Le test HPV urinaire proposé comme alternative au frottis cervico-utérin : suivi virologique et gynécologique à deux ans d'une première campagne de dépistage (étude CapU2).**

Introduction : En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus (CCU) repose sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) chez les femmes âgées de 25 à 65 ans, tous les trois ans après deux FCU normaux espacés d'un an. Malgré ces recommandations, la couverture du dépistage reste insuffisante. Dans ce contexte, une étude pilote (CapU) a été menée dans le département du Maine-et-Loire. CapU1 proposait une recherche d'HPV haut risque (HPV HR) dans les urines à des femmes âgées de 40 à 65 ans n'ayant pas réalisé de FCU depuis plus de trois ans. CapU2 a permis de leur assurer un suivi virologique et gynécologique.

Matériels et méthodes : Sur les 687 femmes ayant participé à CapU1, 666 ont reçu un courrier les invitant à effectuer à nouveau un dépistage par auto-prélèvement urinaire. La recherche d'HPV HR a été réalisée par une technique de PCR en temps réel (PCR TR) (RealTime High Risk HPV, Abbott) permettant la détection de 14 HPV HR. En cas de résultat positif, la patiente était recontactée par son médecin pour réaliser rapidement un FCU. Les prélèvements de CapU2 ont été ré-analysés dans un deuxième temps afin d'évaluer une autre technique de PCR TR (Anyplex™ II HPV28 Detection, Seegene).

Résultats : Sur les 373 prélèvements urinaires regus, 372 ont pu être analysés (un seul refus, taux de participation = 55,86 %). Onze infections à HPV (1 HPV 16, 10 HPV HR autres) ont été détectées (prévalence = 2,96 %), dont trois infections persistantes depuis CapU1 et huit nouvelles (incidence = 2,16 %). Aucun FCU pathologique n'a été retrouvé sur les sept réalisés à ce jour. Une concordance modérée a été retrouvée entre les deux techniques de PCR TR (96,76 %, $\kappa = 0,59$).

Conclusion : CapU2 confirme l'acceptabilité du test HPV urinaire chez les femmes réticentes au FCU. Avec une majorité de femmes restées négatives et seulement huit nouvellement infectées, les résultats de CapU2 se veulent plutôt rassurants quant aux performances du test HPV urinaire, qui pourrait constituer une alternative intéressante au FCU et permettre d'étendre la couverture du dépistage du CCU en France.

Mots-clés : cancer du col de l'utérus / dépistage / frottis cervico-utérin / recherche d'HPV HR / auto-prélèvement urinaire / étude pilote

Urinary HPV DNA testing as an alternative to Pap smear: virological and cytological follow-up two years after a first screening programme (CapU2 study).

Introduction: In France, cervical cancer screening for women aged 25 to 65 is currently based on the cytological examination of a Pap smear, to be done every three years after two normal Pap smears done one year apart. However, the screening coverage remains lower than expected. In this context, the CapU experimental study was carried out in the Maine-et-Loire department. The CapU1 study offered a urinary HPV DNA testing for women aged 40 to 65 who had not had any Pap smear done for the past three years. The CapU2 study planned a virological and cytological follow-up for these women.

Materials and methods: 666 women received a letter asking them to undergo again a screening test using a urine sample. HPV DNA detection was first done using the Abbott real-time PCR assay (RealTime High Risk HPV), detecting 14 high risk (HR) HPV genotypes. When the result of the HPV DNA detection was positive, the patient was contacted by her doctor to have a Pap smear done as soon as possible. Then, urine samples collected during the CapU2 study were used to assess the performance of another real-time PCR assay (Anyplex™ II HPV28 Detection), which detected 28 HR HPV genotypes.

Results: Out of the 666 invitations sent, 373 urine samples were collected in our laboratory and 372 analyzed, with only one woman refusing to participate (participation rate = 55.86%). Eleven HPV infections (1 HPV 16, 10 other HR HPV) were detected (prevalence = 2.96%), including three HPV persistent infections and eight new acquisitions (incidence = 2.16%). Seven Pap smears have been done so far, they were all normal. The two real-time PCR assays showed moderate agreement (96.76%, $\kappa = 0.59$).

Conclusion: The CapU2 study confirms that women who refuse to undergo standard screening seem to be interested in urinary HPV DNA detection. With most women remaining uninfected and only eight getting infected between the two screening programmes, the CapU2 study results tend to prove that home-based urinary HPV DNA testing could be a good alternative to Pap smear and could help to improve the cervical cancer screening coverage in France.

Keywords : cervical cancer / screening / Pap smear / HPV DNA detection / urine sample / experimental study