

Papillomavirus humains HPV

A.DUCANCELLE

Département des Agents Infectieux

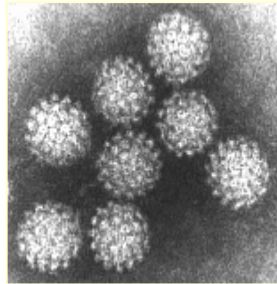
CHU ANGERS



Introduction

- **Les papillomavirus ou Human Papilloma Virus (HPV)**
 - Petit virus à ADN
 - Tropisme épithélial → épithélium malpighien
 - Infection de la peau (verruë) et des muqueuses anogénitale et oropharyngée
 - Transmission par contact direct inter-humain (peau-peau et muqueuse-muqueuse)
 - Maladie sexuellement transmissible la plus fréquente dans le monde (6 millions nouvelles infections/an)
 - Infections souvent fréquentes et transitoires
 - Implication de certains HPV à haut risque ou oncogènes dans le développement de cancers épithéliaux

Famille *papillomaviridae*



Virus nus

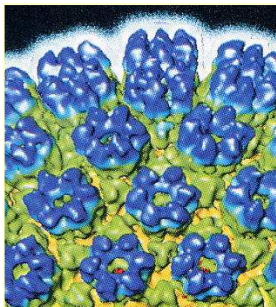
45-55 nm \varnothing



ADN circulaire

~ 8000 pb

bicaténaire



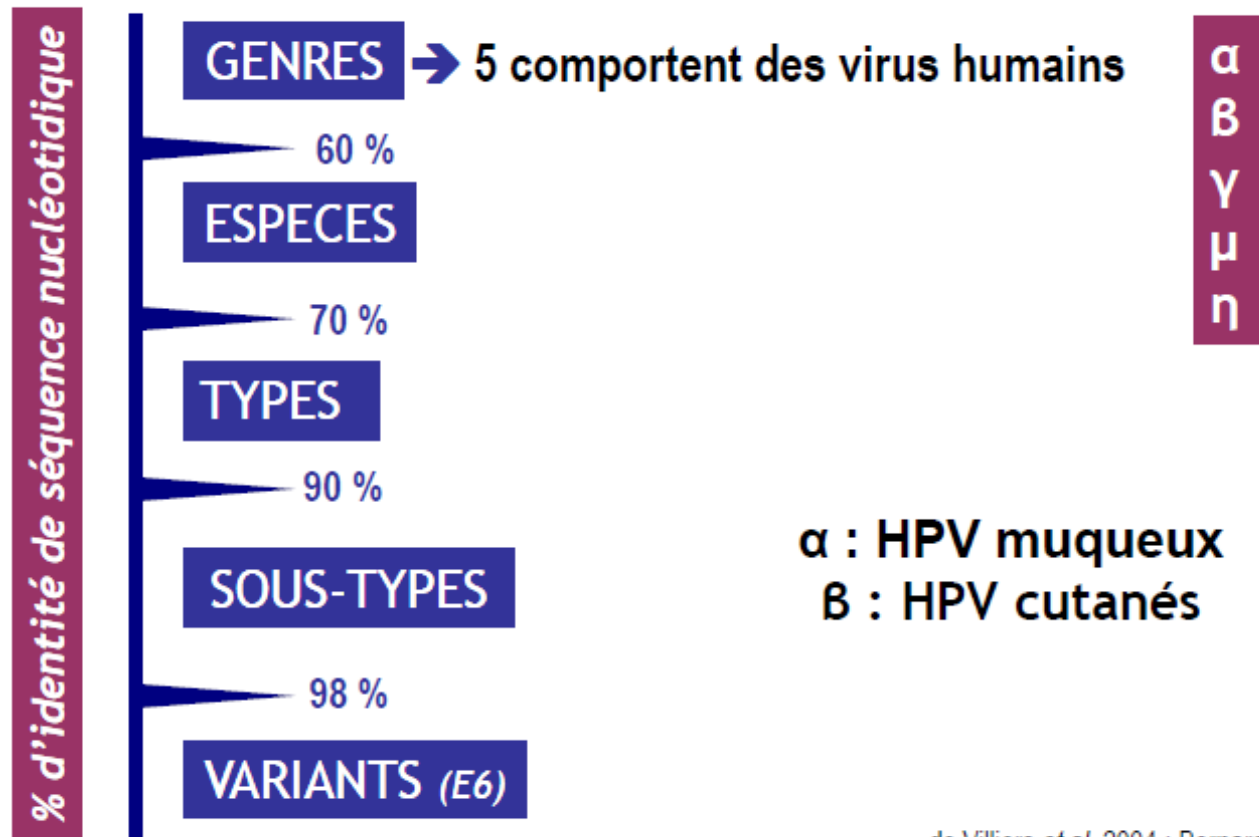
Capside

L1 : protéine majeure

L2 : protéine mineure

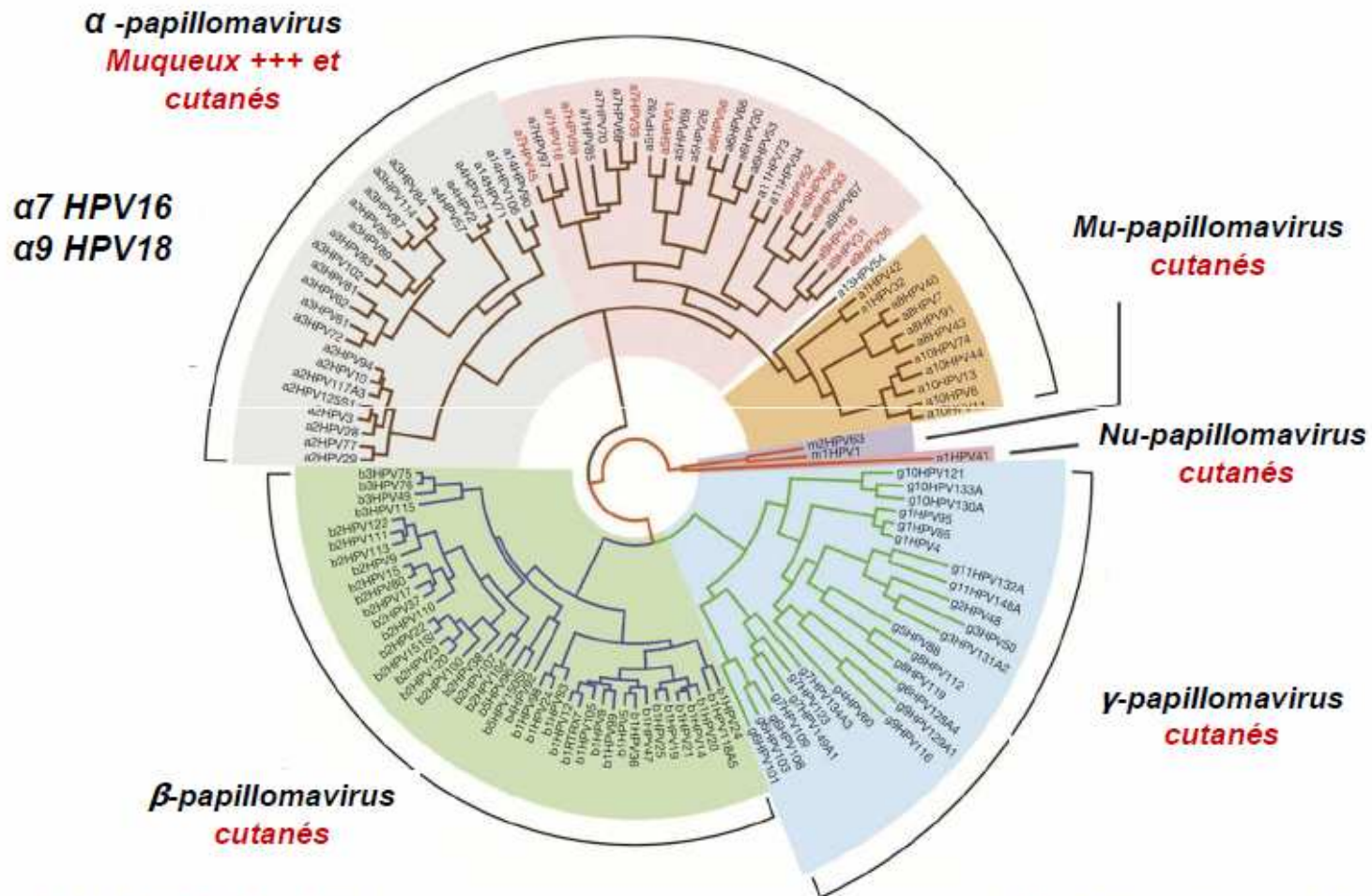
Famille *papillomaviridae*

Séquence nucléotidique gène *L1* (capside) +++

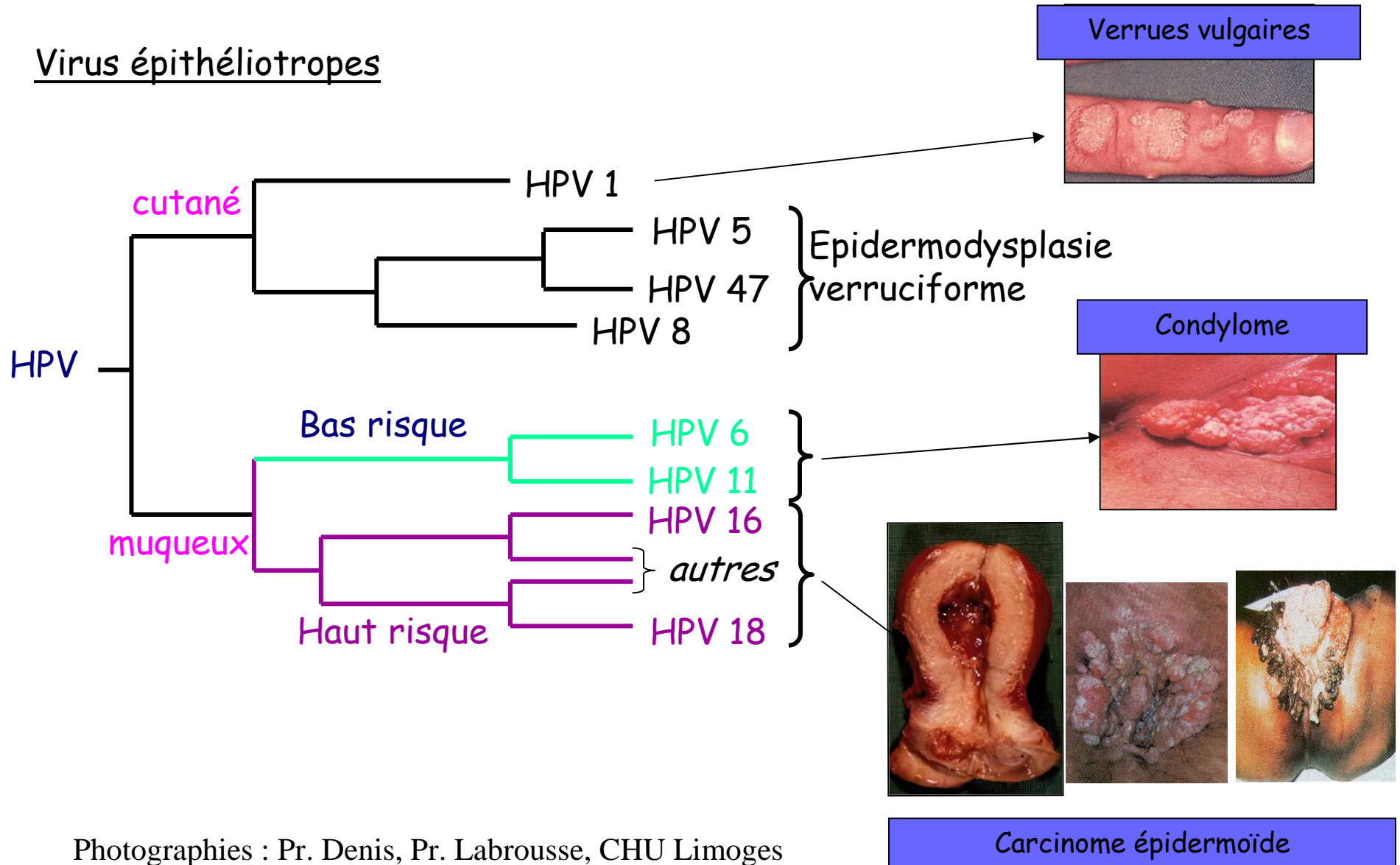


de Villiers *et al*, 2004 ; Bernard *et al*, 2010

Famille *papillomaviridae*

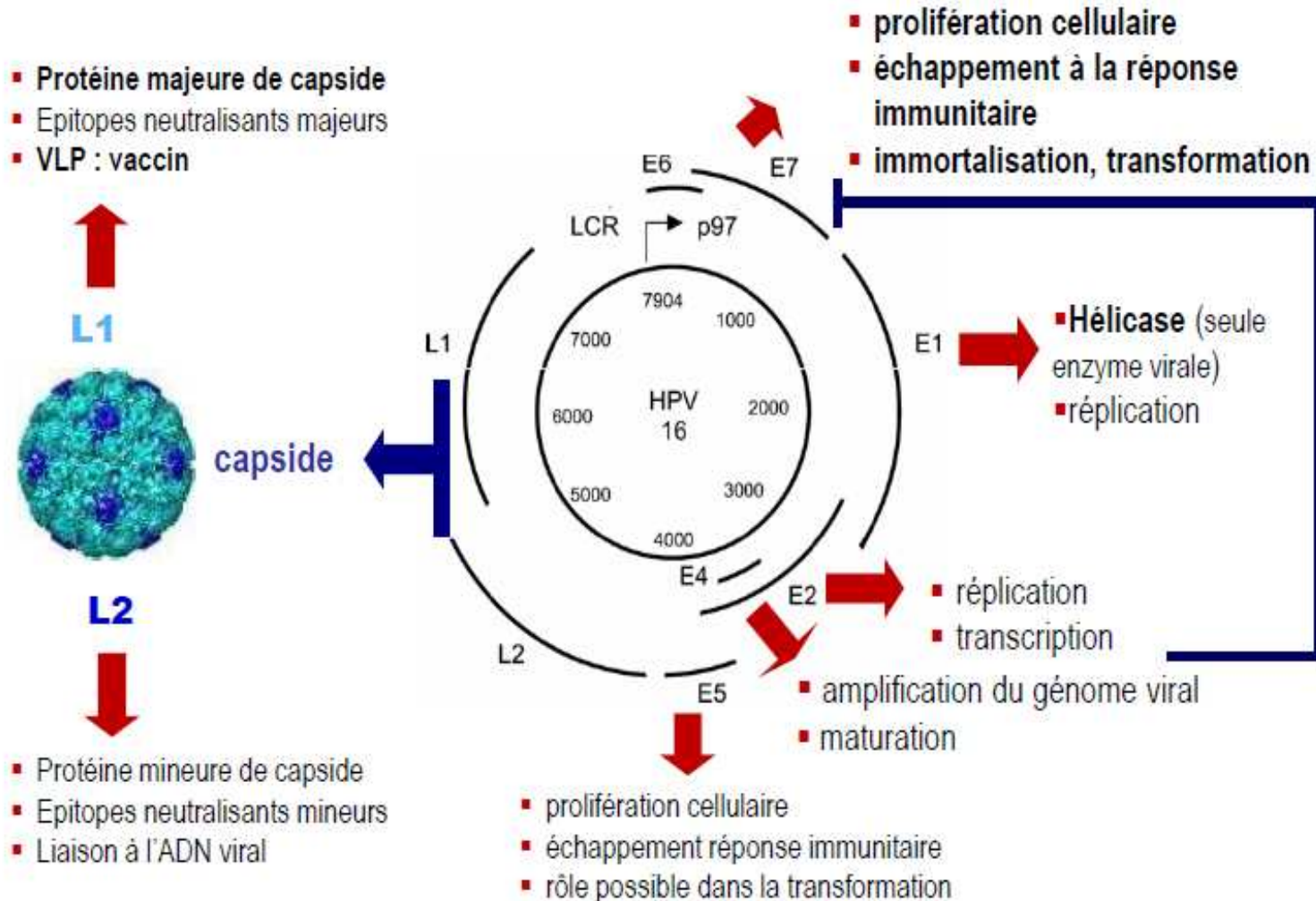


Classification des HPV



Photographies : Pr. Denis, Pr. Labrousse, CHU Limoges

Les protéines virales





POUVOIR PATHOGENE



Transmission

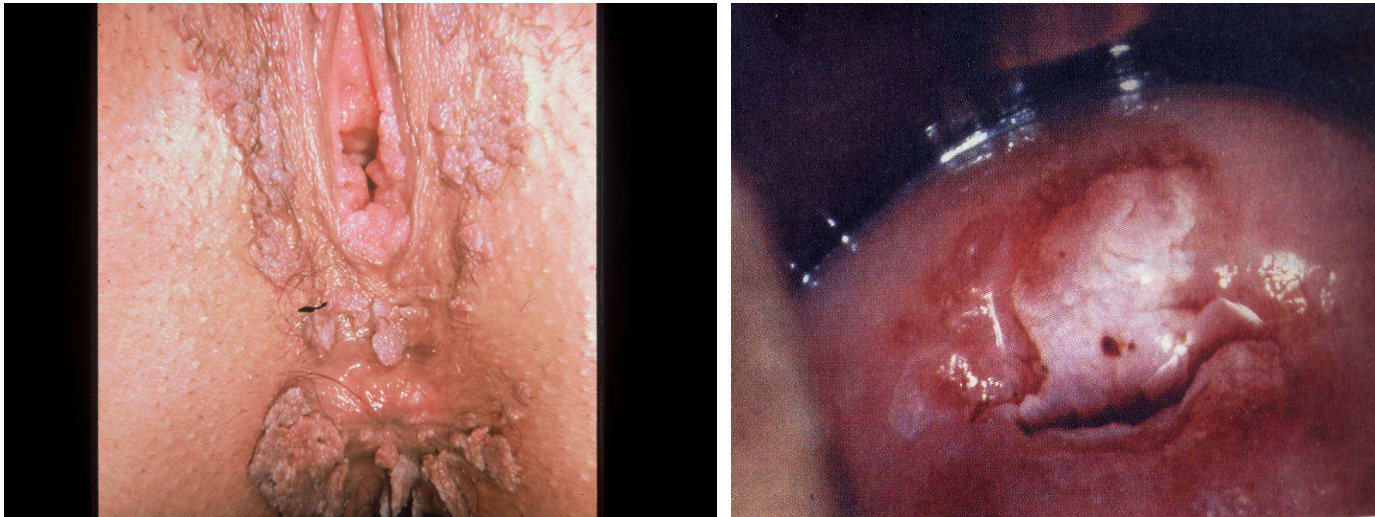
- HPV essentiellement transmis par contact direct peau à peau ou muqueuse à muqueuse
- HPV cutané :
 - par contact direct ou par l'intermédiaire d'objets contaminés (linge, sol des piscines)
- HPV muqueux :
 - Par contact direct (rapports sexuels +++)
 - 💣 Infection du col possible sans acte sexuel
 - Materno-foetale lors de l'accouchement
- Immunodépression, grossesse et ménopause favorisent l'apparition ou la récurrence des infections à HPV

Pouvoir pathogène des HPV cutanés



- **Verrues cutanées :**
 - morphologie et localisation variée en fonction du génotype, régression spontanée
 - **Génotypes 1,2,3,4,7,10,26- 29,41, 48,60, 63, 65, 75-78....**

Pouvoir pathogène des HPV muqueux



- **Condylome acuminé ou «crêtes de coq»** : proliférations épithéliales exophytiques bénignes (vulve,pénis,périnée,col utérin,vagin,anus)
 - HPV à Bas risque : 6 et 11
 - Diagnostic clinique à « l'œil nu »
- **Condylomes plans** : fréquents au niveau du col
 - Colposcopie

Pouvoir pathogène des HPV muqueux

12 700 000 cancers en 2008

700 000 cancers localisés à des sites ciblés par les HPV

610 000 attribuables aux HPV

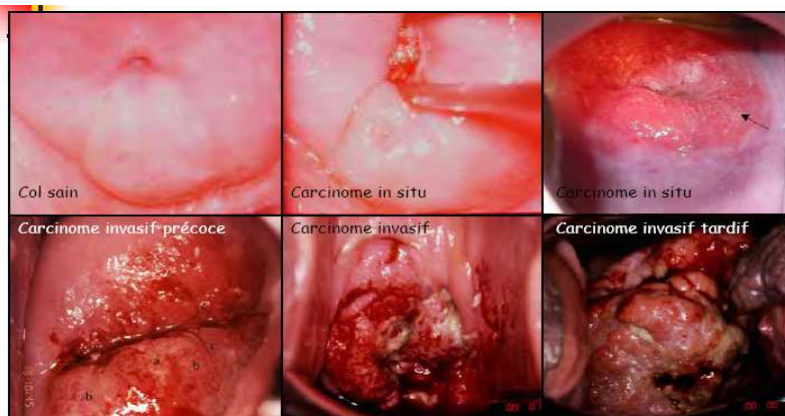
100 % des cancers du col utérin : 530 000

88 % des cancers anaux : 24 000

50 % des cancers péniens : 11 000

43/70 % des cancers vulve/vagin : 21 000

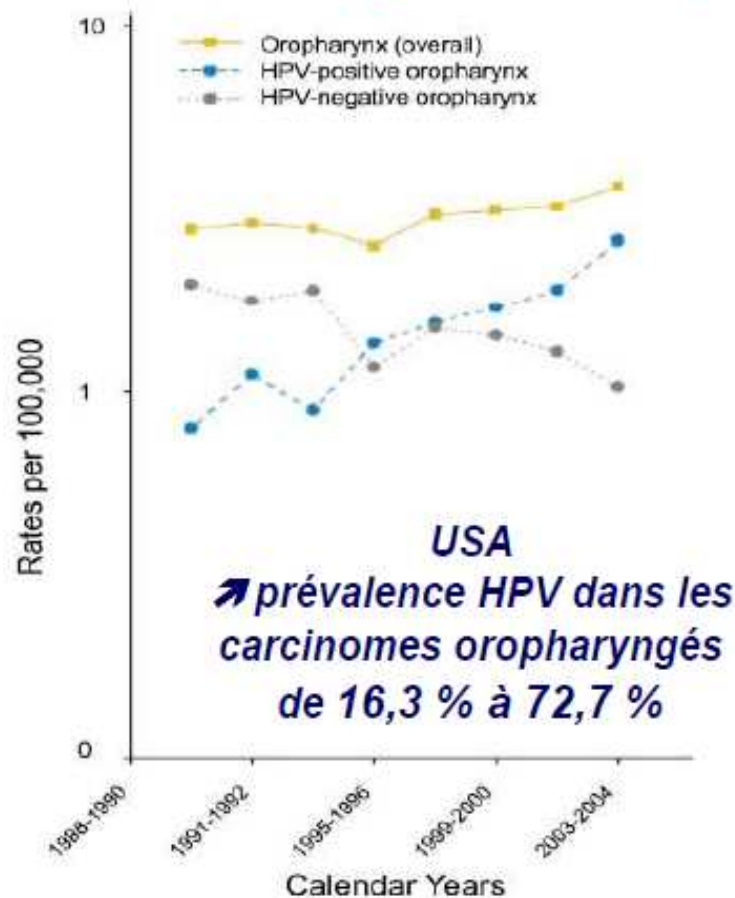
25 % (13 à 60 %) des cancers oropharynx : 22 000



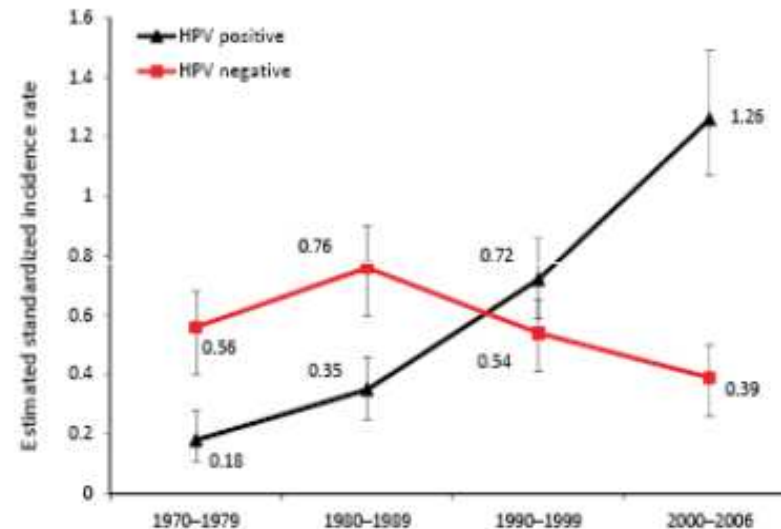
De Vuyst et al, IJC 2009 ; Backes et al, CCC 2009 ; Globocan 2008

Pouvoir pathogène des HPV muqueux

L'augmentation de l'incidence des cancers de l'oropharynx est due à l'augmentation de la proportion des cancers liés à HPV



Chaturvedi et al, J Clin Oncol, 2011



Ramqvist & Dalianis, Emerg Infect Dis 2010

Pouvoir pathogène des HPV muqueux

■ Muqueuse oropharyngée et digestive

□ Cancer

- AMYGDALÉ 50%
- Papillome laryngé
- Œsophage ?
- ANUS 85%

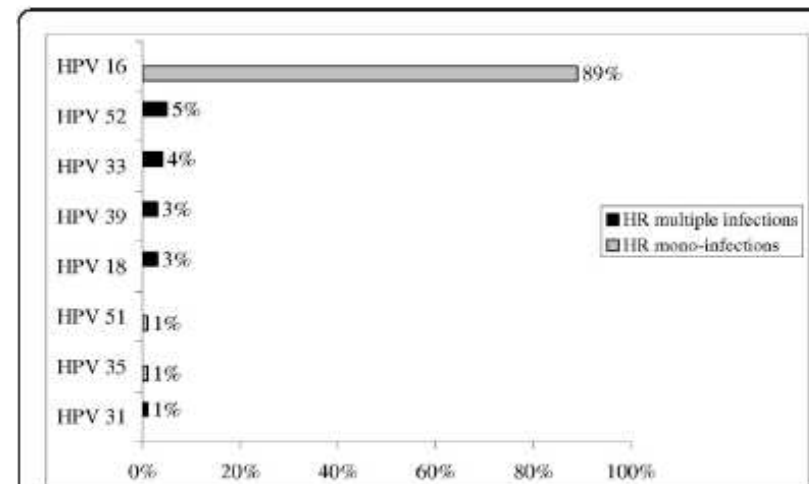


Figure 1 HR HPV distribution among tonsil HPV positive cases (n = 106).

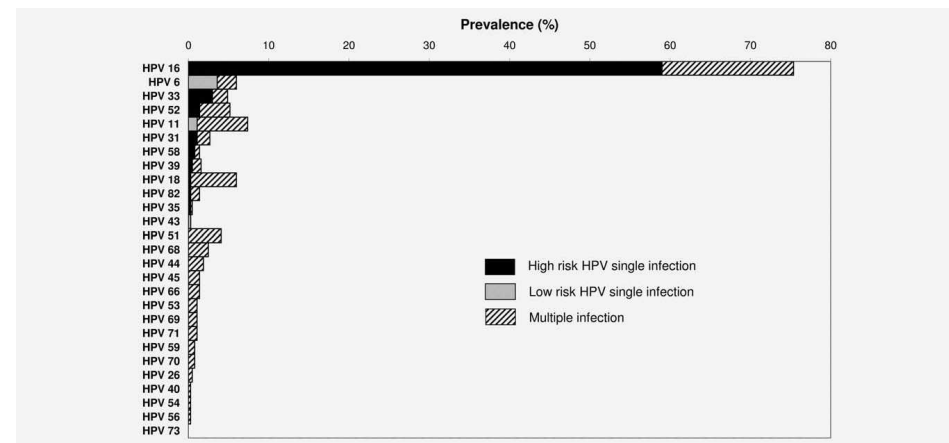
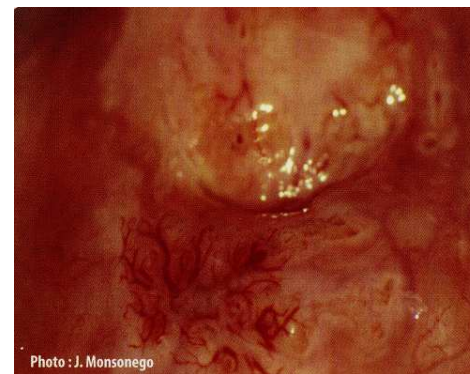
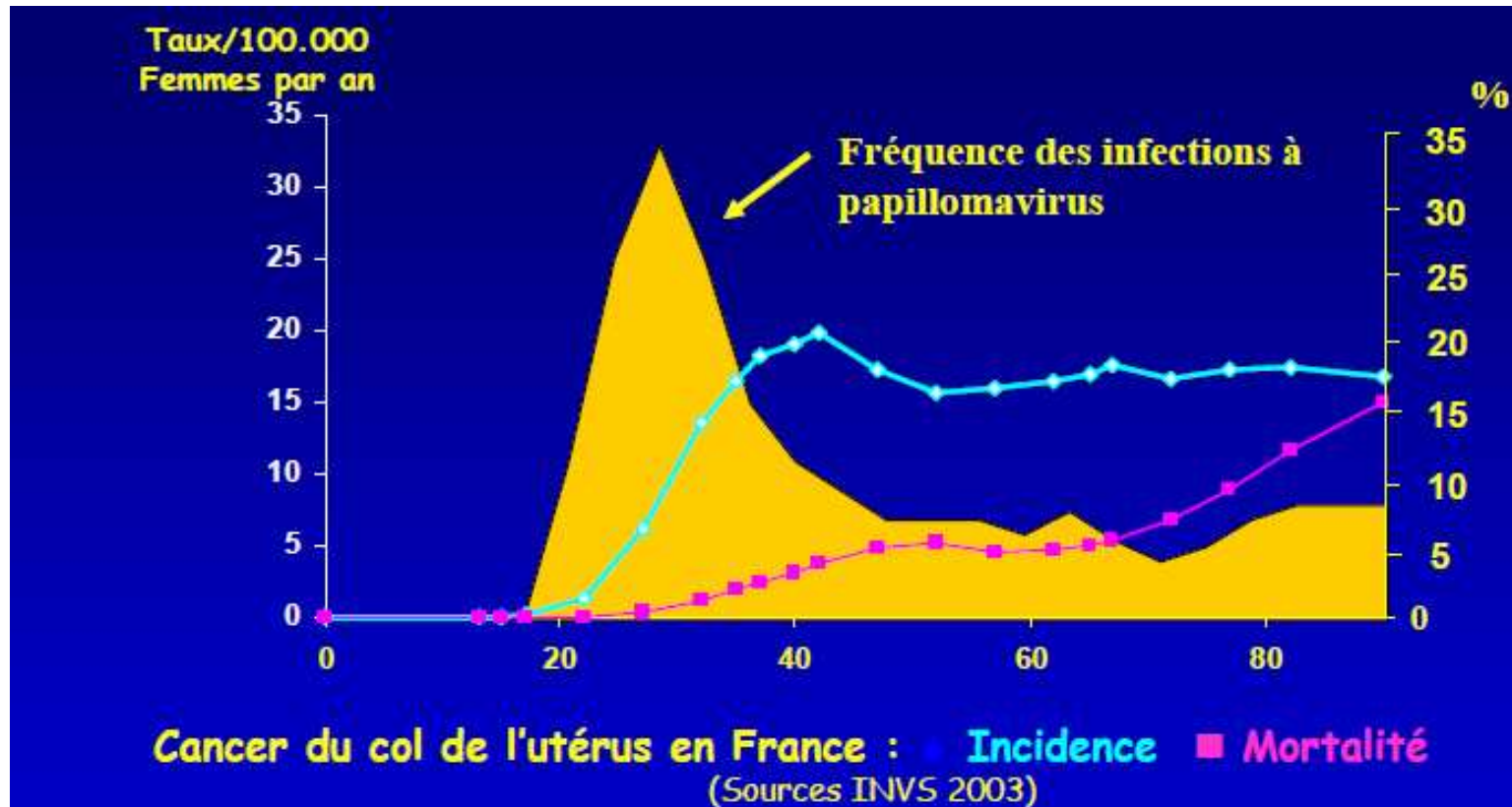


Figure 1. Distribution of HPV genotypes (%) in 366 histological specimens of anal cancers in France (single or multiple infections). Black bars indicate high risk genotypes, grey bars low risk genotypes. Dashed areas represent the proportion of multiple infections.

CANCER DU COL DE L'UTERUS



Histoire naturelle HPV muqueux



Fréquence du portage des HPV oncogènes en France : 14,3%

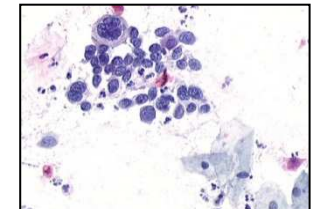
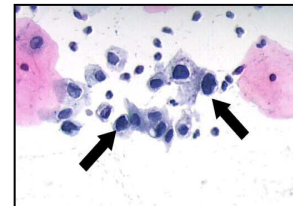
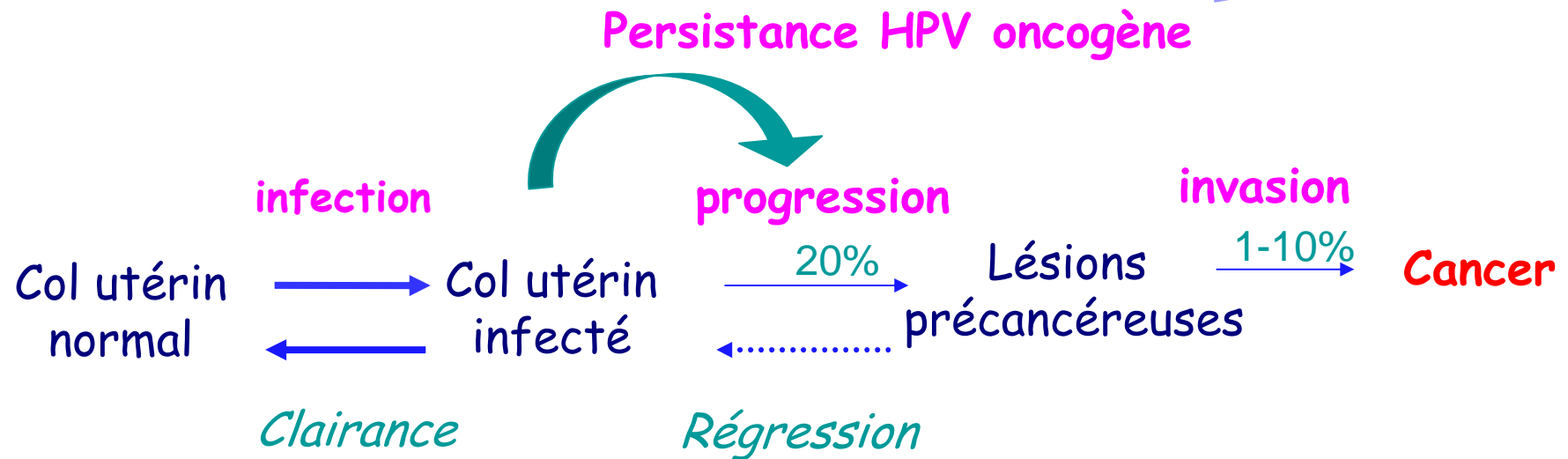


Evolution naturelle

- Si le virus n'est pas éliminé
 - ADN viral se multiplie : **infection persistante à HPV** et risque d'apparition d'un cancer selon les génotypes
 - Les femmes ayant une infection persistante par un HPV à haut risque ont 300 fois plus de risques de développer un cancer
 - **ADN viral reste latent** : risque de multiplication virale sous l'influence de facteurs exogènes ou endogènes

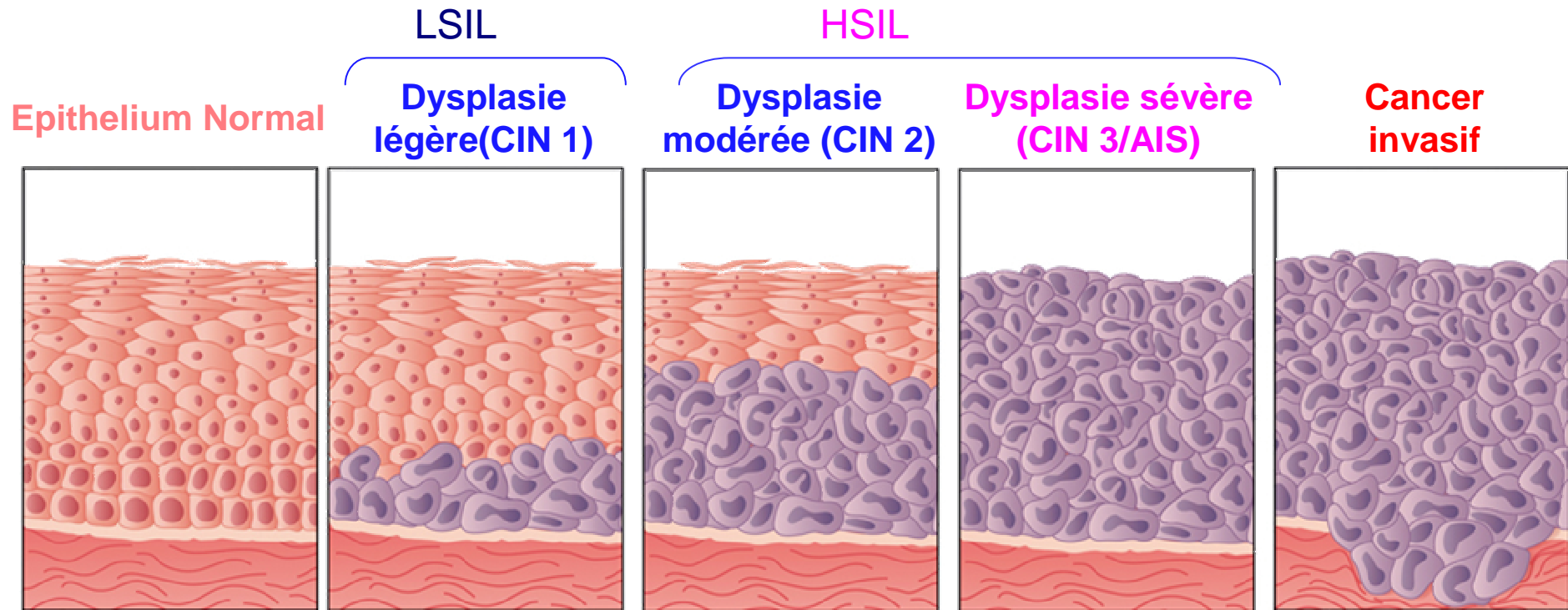
Histoire naturelle et cancer

Age, Tabac, F hormonaux, IST, Terrain génétique, Génétique du virus



5 à 20 ans

Lésions précancéreuses et cancéreuses



Développement histologique du cancer du col de l'utérus

CIN = néoplasies intra-épithéliales cervicales
 AIS = Adénocarcinome In Situ
 = Tissu conjonctif

= Membrane basale
 = Cellules cancéreuses
 = Cellules épithéliales normales

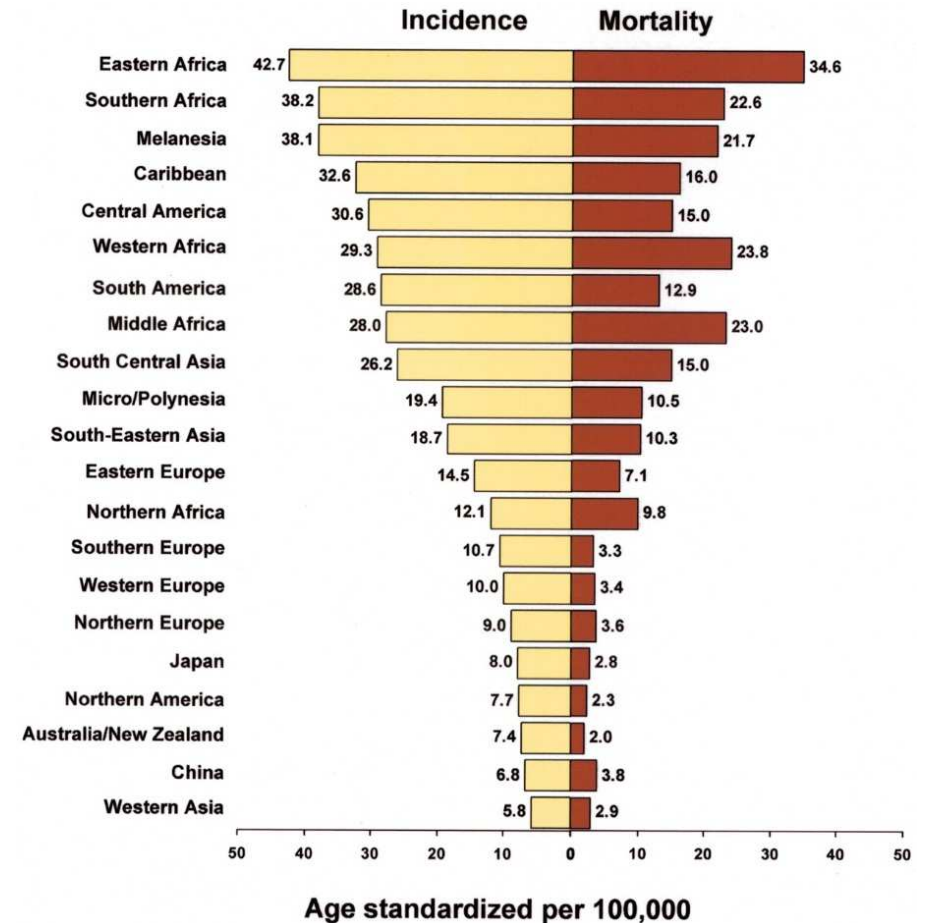
ASC-US : Atypical Squamous Cells of Unknown Significance
 ASC-H : Atypical Squamous Cells-cannot exclude High-grade squamous intraepithelial lesion
 LSIL : Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion
 HSIL : High-grade Squamous Intraepithelial Lesion

Cancer du col de l'utérus dans le monde

■ Deuxième cancer dans le monde

- 493000 nouveaux cas
- 274 000 décès par an

■ Deuxième cancer de la femme jeune en Europe





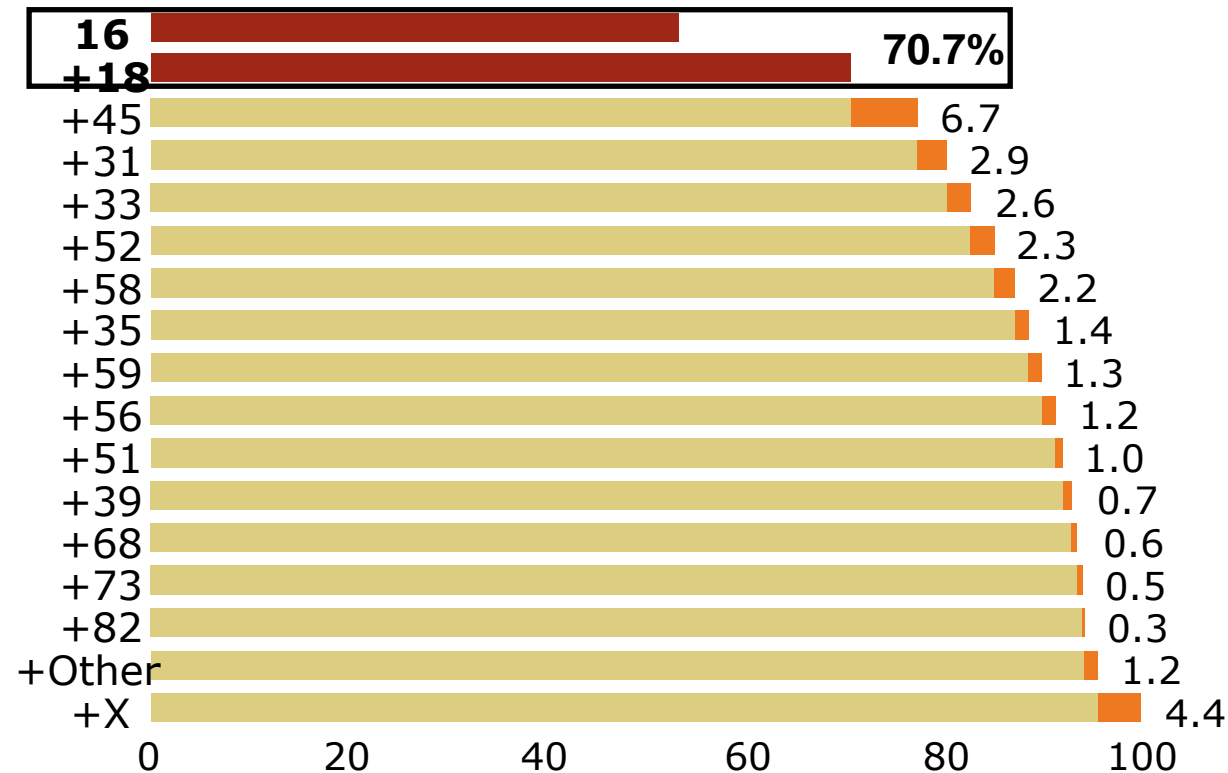
Cancer du col de l'utérus : état des lieux en 2014

- En 2012, le Cancer invasif du col de l'utérus (CCU)
 - 11^{ème} des cancers de la femme en France
 - 3028 nouveaux cas et 1102 décès
- Incidence du CCU baisse régulièrement depuis 1980 (-2,5% par an entre 1980 et 2012 ; -1,3% entre 2000 et 2012)
- Incidence de la mortalité du CCU baisse régulièrement depuis 1980 (-3,2% par an entre 1980 et 2012 ; -2% entre 2000 et 2012)
- En France : Dépistage par frottis cervico-vaginal à partir de l'âge de 25 ans : tous les 3 ans si deux frottis normaux à 1 an d'intervalle

Mais seulement 60 % des femmes dépistées

HPV à haut risque ou HPV HR

- Principaux types d'HPV oncogènes associés au cancer du col de l'utérus dans le monde



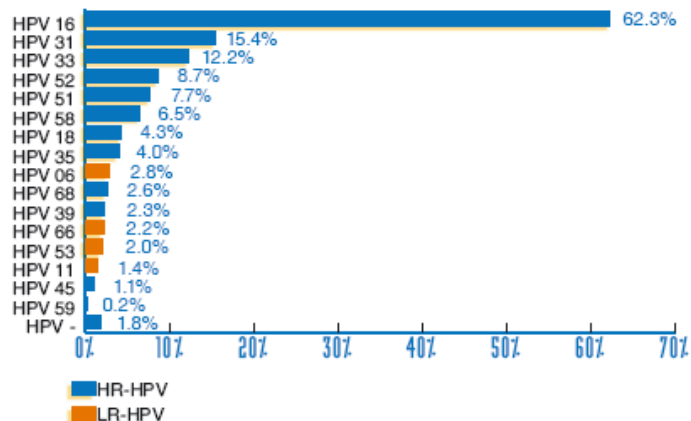
HPV à haut risque ou HPV HR

Localization of study centres



505 CIN2/3 specimens provided by 13 centres localized in France

Prevalence of the main HPV genotypes



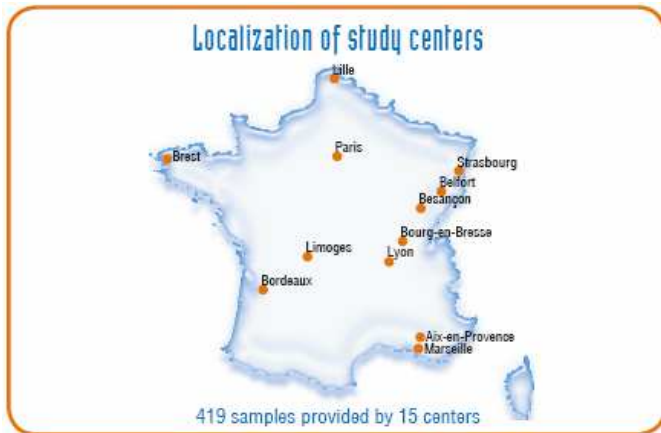
HPV 16 and 18 prevalence was 64.0% (2.6% were HPV 16 and 18 co-infected).

- Prévalence des génotypes dans les lésions cervicales de haut grade (CIN2/3)
 - 492 échantillons
 - Age moyen : 38,3

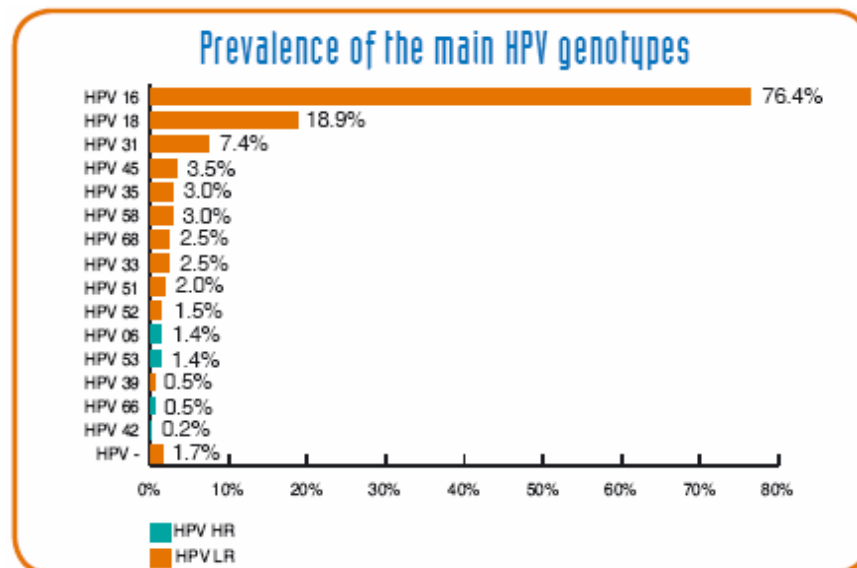
Prévalence HPV 16+18 = 64%

Riethmuller D et al, 23rd international Papillomavirus Conference; Prague 2006

HPV à haut risque ou HPV HR



- Prévalence des génotypes dans les cancers invasifs du col
 - 419 échantillons
 - Moyenne âge : 52,7 ans
 - 87% carcinomes épidermoïdes,
 - 13% adénocarcinomes



Prévalence HPV 16+18 = 84%

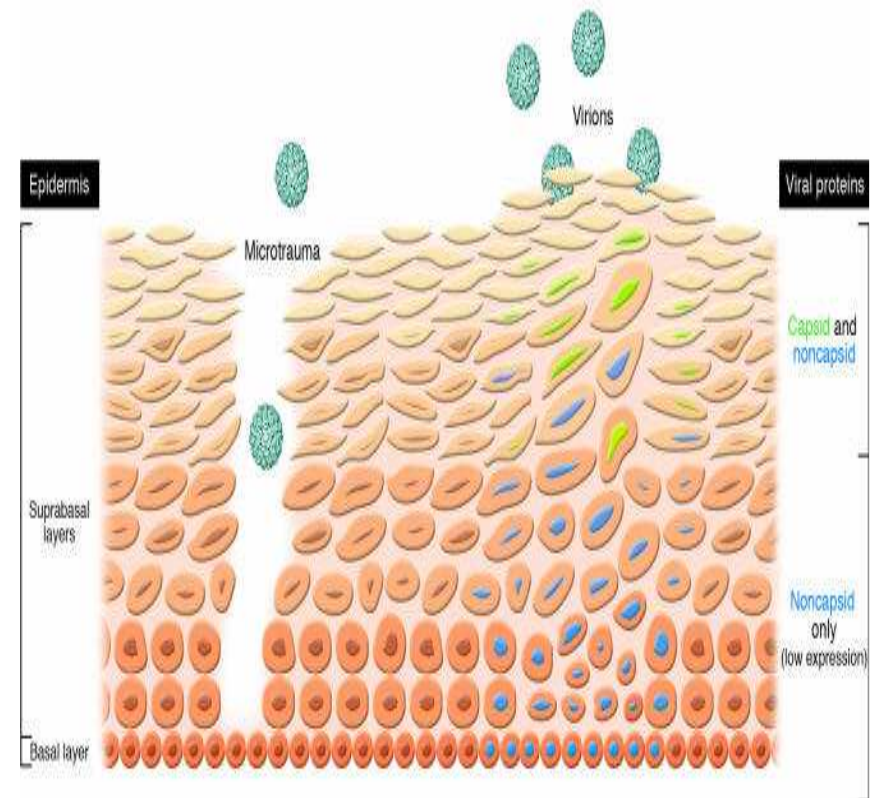
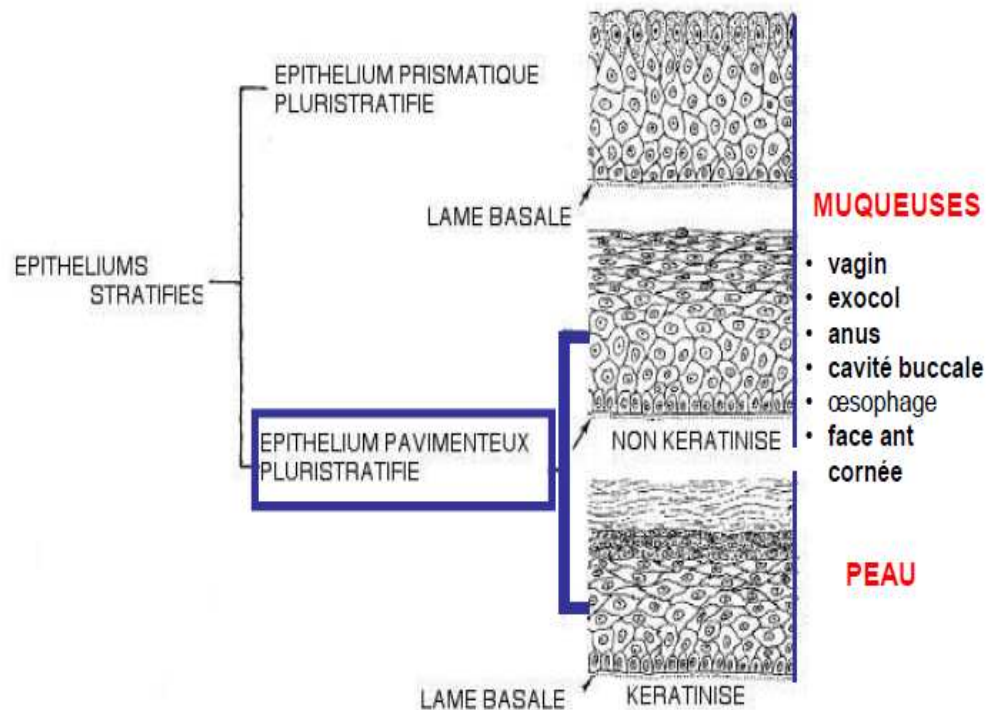
Riethmuller D et al, 23rd international Papillomavirus Conference; Prague 2006



Biologie des HPV

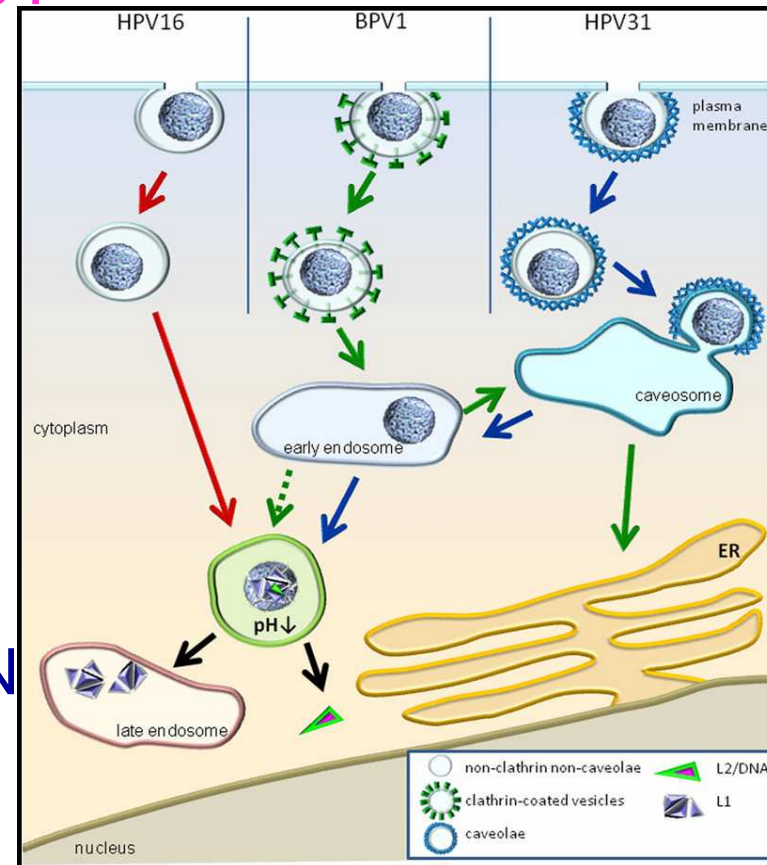
Histoire naturelle de l'infection à HPV

Tropisme des HPV pour les épithéliums malpighiens =
pavimenteux pluristratifiés +++

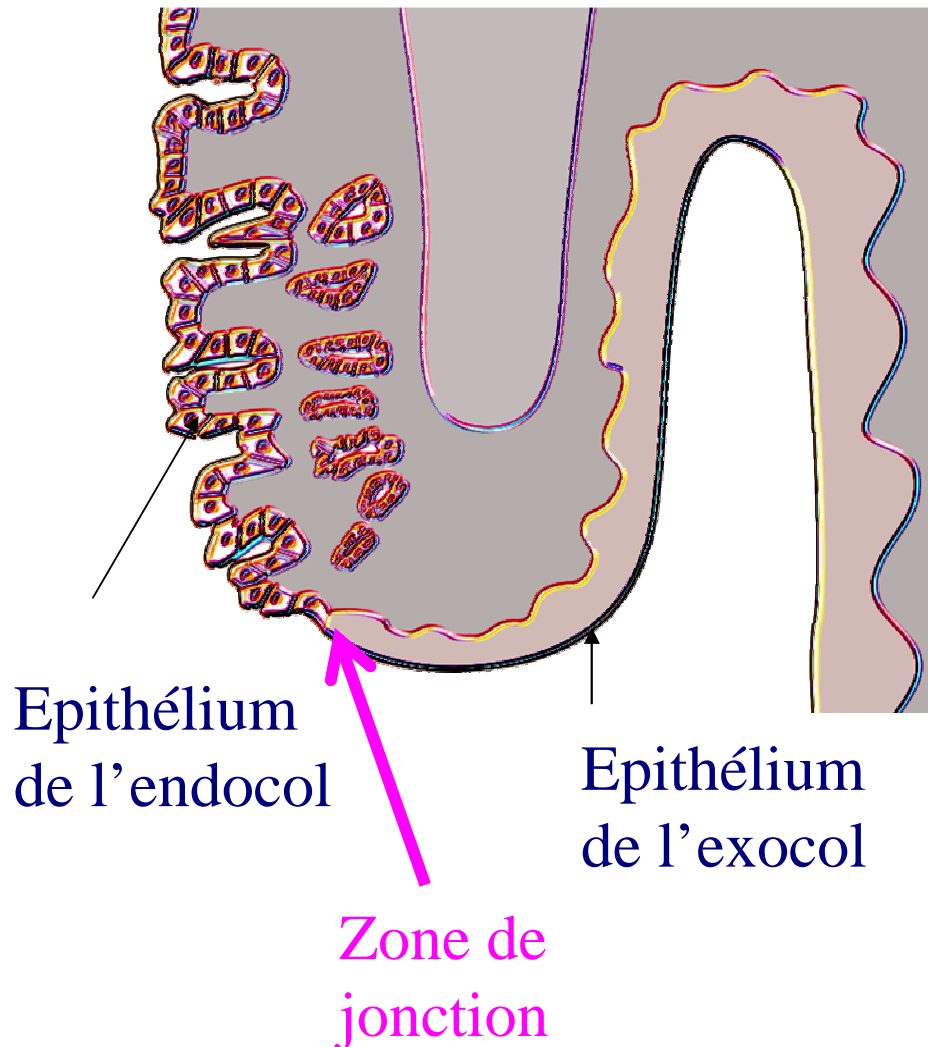


Entrée du virus

- Nature du récepteur du virus : controversée
 - Heparan sulphate protéoglycanes ?
 - $\alpha 6$ intégrine ?
- Mode d'entrée par voie d'endocytose
 - Pas pour tous les HPV
- Détection des transcrits ARN dès 12h post-infection



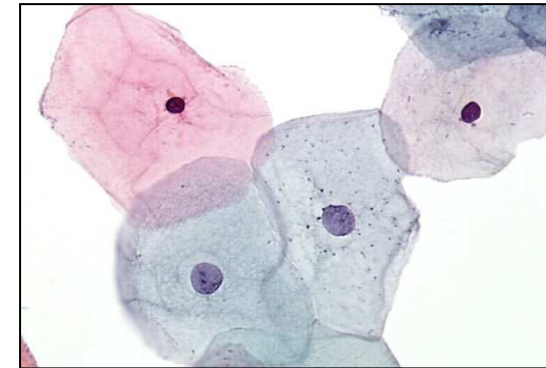
Histoire naturelle de l'infection à HPV



- Infection des cellules de la couche basale des épithéliums malpighiens (muqueuse anogénitale)
- Zone de jonction
 - fragilité mécanique
 - fragilité immunitaire

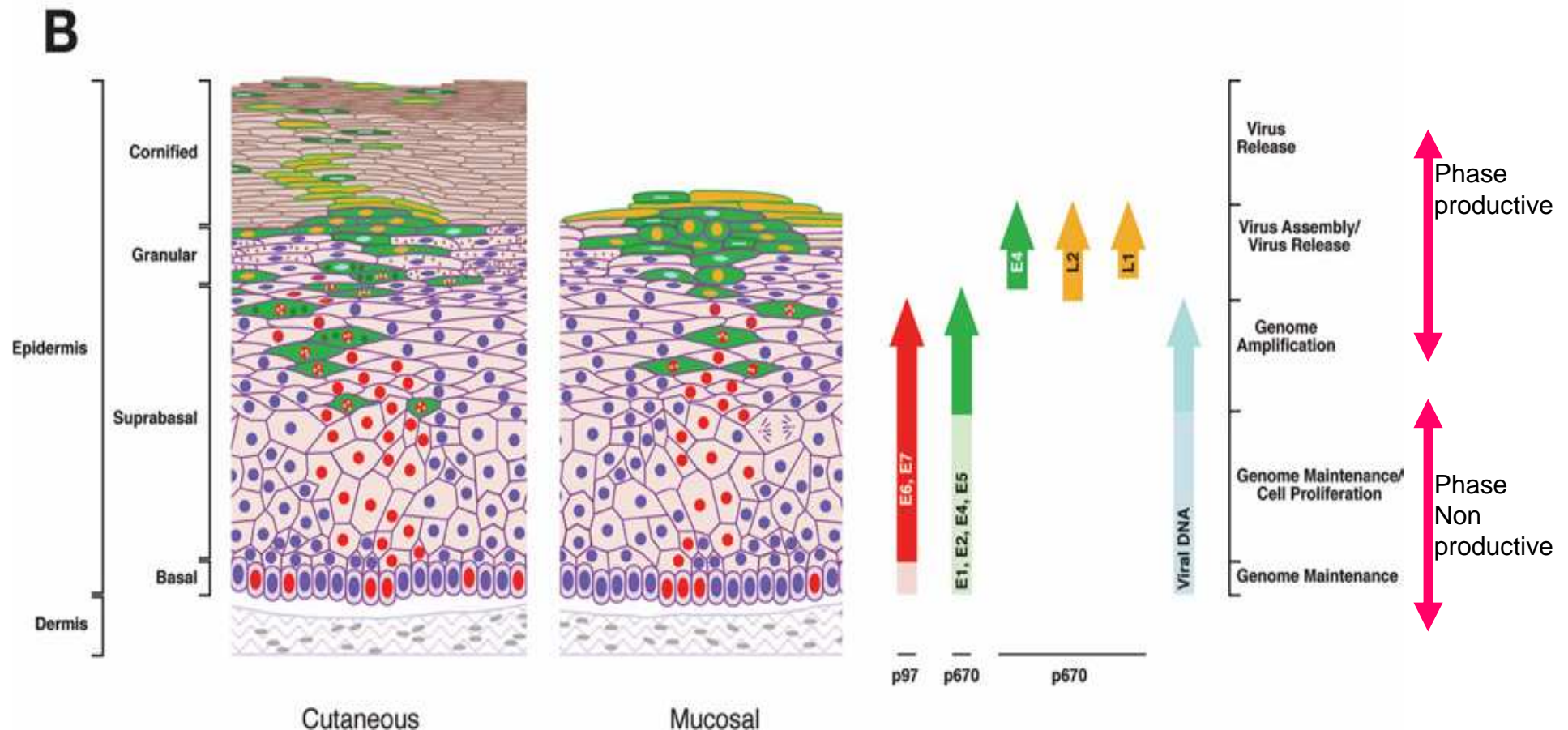
Histoire naturelle de l'infection à HPV

- Effet cytopathique caractéristique sur les cellules cibles : **koïlocytose**
 - Cellules à noyaux volumineux parfois bi-nucléés, chromatine irrégulière, halo périnucléaire et densification du cytoplasme

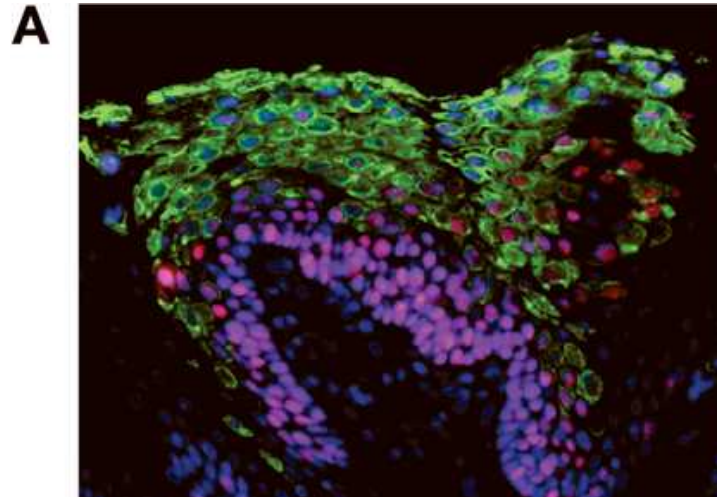


Cycle viral

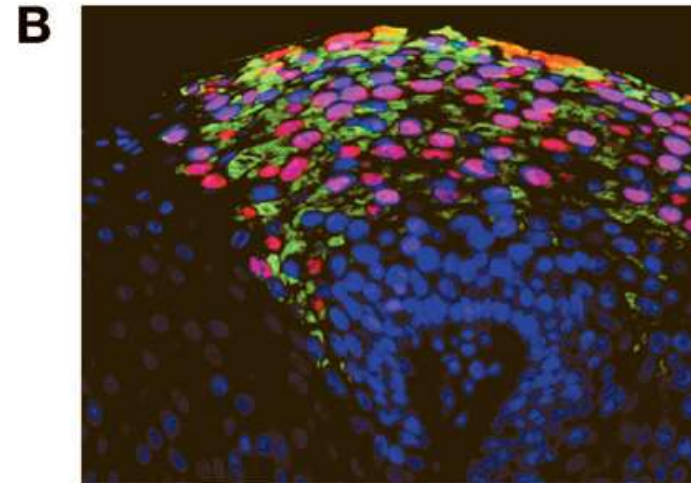
Le cycle viral suit la différenciation cellulaire de l'épithélium



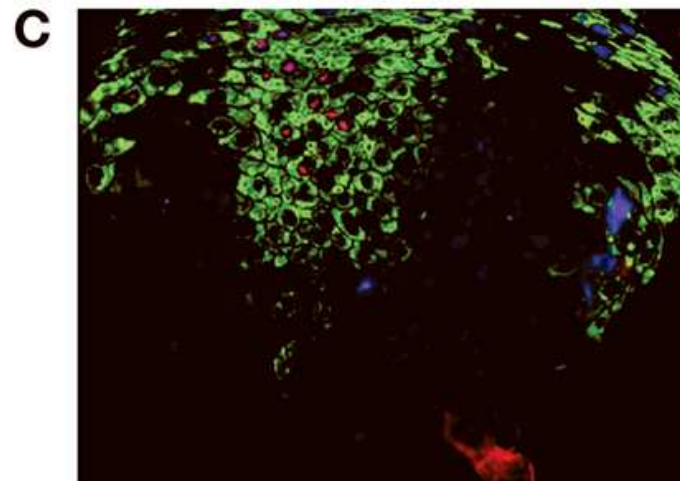
Cycle viral



Expression E6 E7 (rouge)
Expression E4 (vert)
Noyau (bleu)



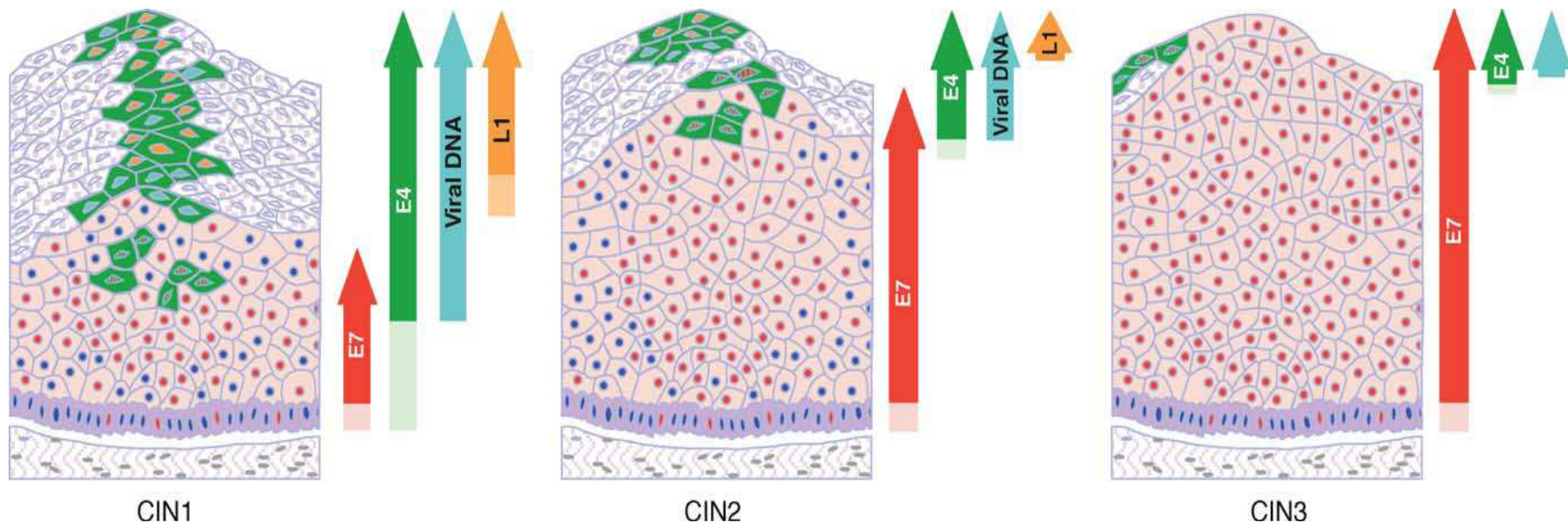
Amplification génome (rouge, FISH)
Expression E4 (vert)



Expression L1 (rouge)
Expression E4 (vert)

Cycle viral

- Expression protéique varie en fonction du grade histologique des lésions



Cycle viral

- Expression protéique varie en fonction du grade histologique des lésions

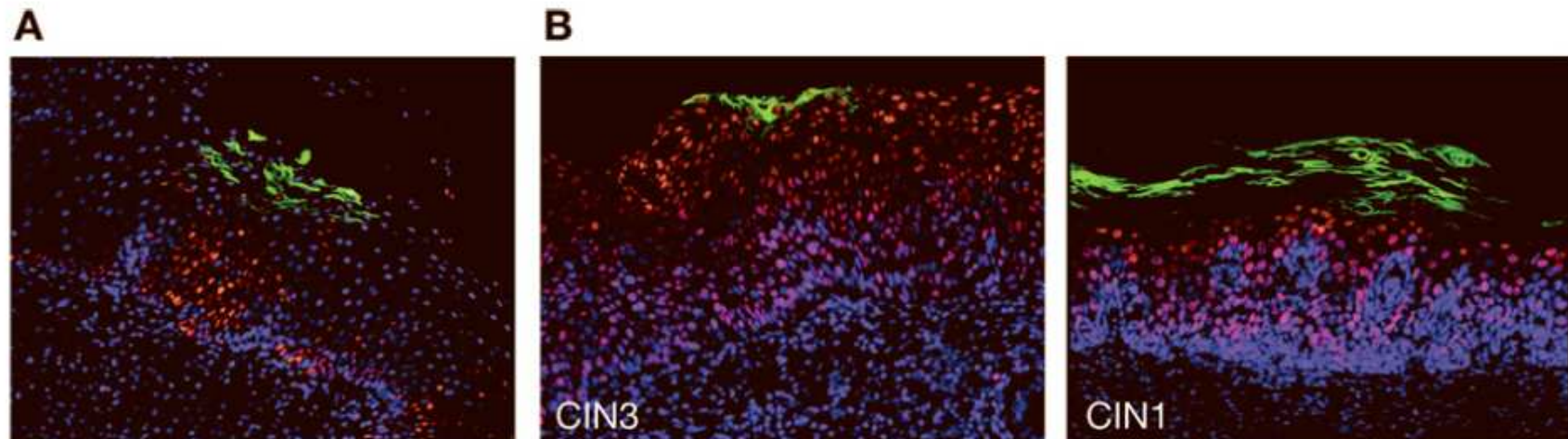


Figure 6 Detection of viral proteins in cervical intraepithelial neoplasia

(A) The expression of surrogate markers of E7 (in this case MCM; in red) and E4 (in green) in HPV16-infected cervix resembles the pattern of expression seen in productive papillomas caused by other papillomavirus types (see also Figure 4). Nuclei are counterstained with DAPI (in blue) and uninfected tissue is apparent either side of the area of infection. (B) During cancer progression, the expression of surrogate markers of E7 (in this case MCM; in red) extends towards the epithelial surface and the expression of E4 is restricted to isolated pockets close to the upper epithelial layers. CIN3 is shown on the left, whereas the pattern seen in many productive CIN1 lesions is shown on the right. Nuclei are counterstained with DAPI (in blue).



Mécanisme d'oncogenèse

Facteurs d'hôte

Facteurs viraux



Facteurs de risque de l'oncogenèse

- Facteurs liés à l'hôte associés au risque de développer une lésion de haut grade est corrélé
 - **Age** de la première contamination
 - **Comportement sexuel** : nombre de partenaires sexuels et l'âge au premier rapport sexuel
 - **Statut immunitaire** : transplantés rénaux, dialysés, VIH
 - Prédilection **génétique** (haplotypes d'HLA particuliers)
 - **Tabac**
 - Classe sociale **défavorisée**

Oncogenèse

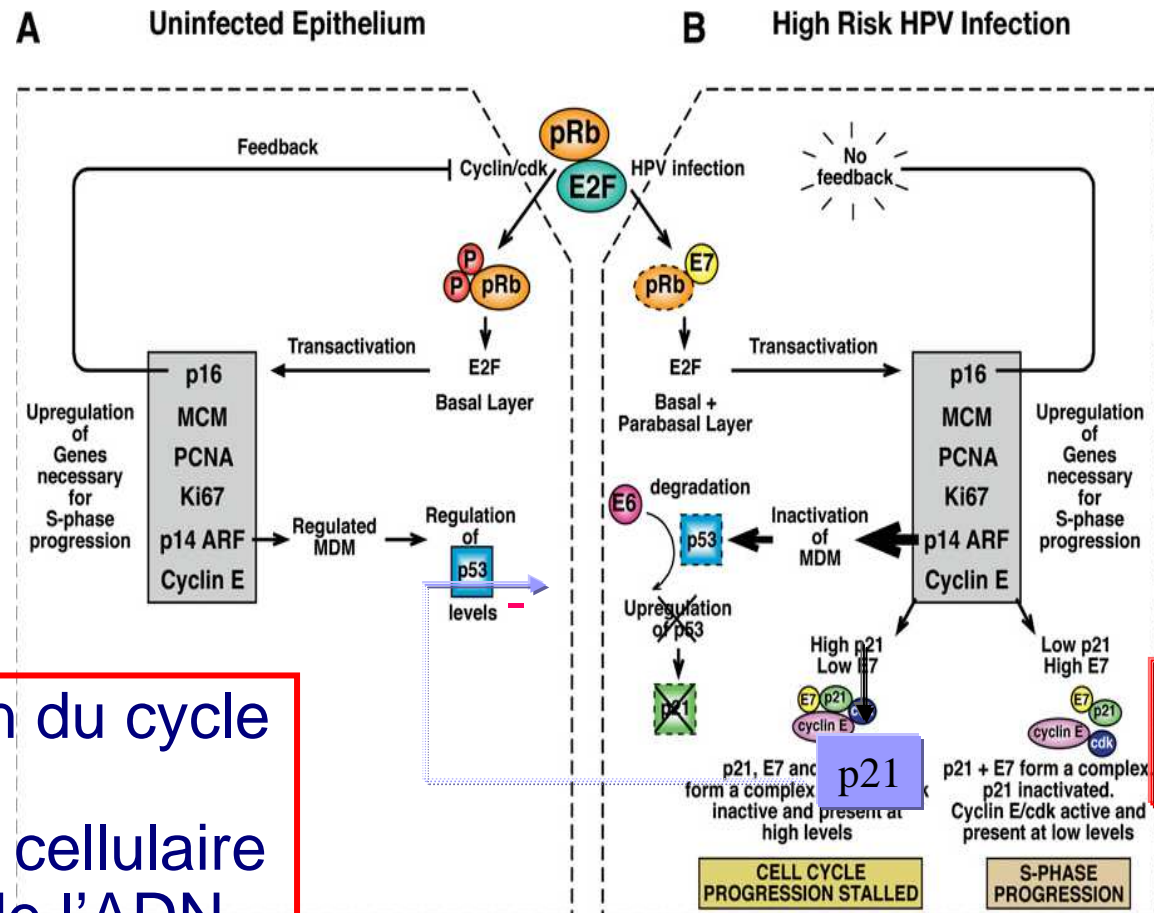
- Mécanisme moléculaire de la cancérogenèse
Intégration de l'ADN viral à l'ADN cellulaire
 - Plus fréquente avec HPV HR que HPV LR
 - Pour HPV HR :
 - Génome sous forme épisomale : lésion de bas grade
 - Génome intégré : lésion de haut grade
 - Intégration au niveau du gène E2 en amont des gènes précoces E6 et E7



Invalidation de E2

Surexpression de certains gènes viraux (E6 et E7)

Oncogenèse



E7

pRb

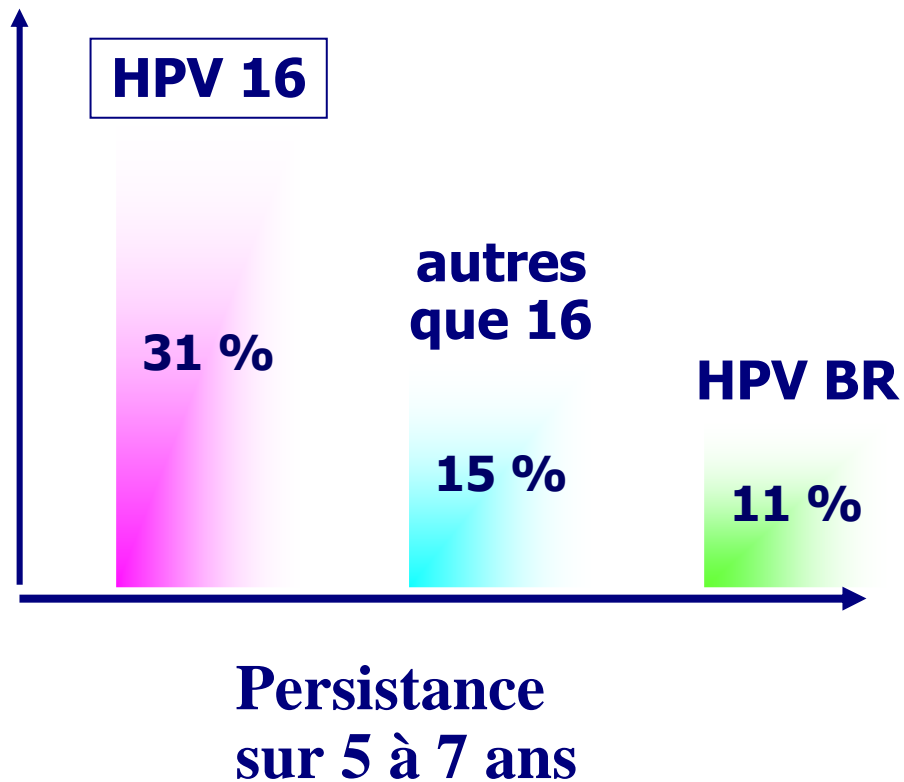
Dérégulation du cycle mitotique
Prolifération cellulaire
Anomalies de l'ADN

E6

P53

Inhibition de l'apoptose

Oncogenèse



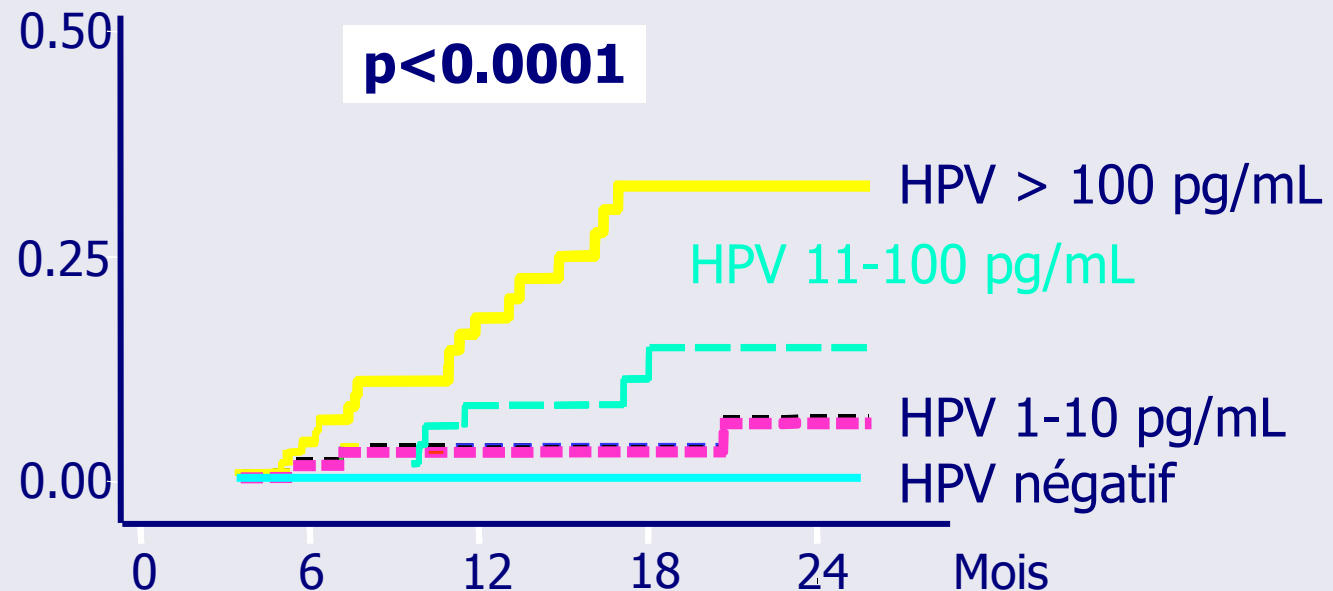
■ Facteurs viraux

- Type viral
- Persistance virale
 - Détection du même type viral lors de visites successives
 - Plus fréquente pour l'HPV 16
 - Précède l'apparition du cancer invasif

Oncogenèse

- Facteurs viraux : Charge virale élevée

Incidence cumulative
CIN 2/3 +



- Charge virale élevée (PCR Q)
 - Facteur de risque de CIN 3 (OR > 5)
 - Marqueur pronostique de HGSIL

Oncogenèse

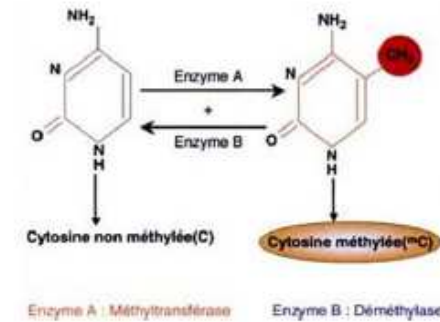


Figure I-1: Mécanisme de méthylation de la cytosine au niveau de l'ADN (d'après Baylín *et al.*, 2003).

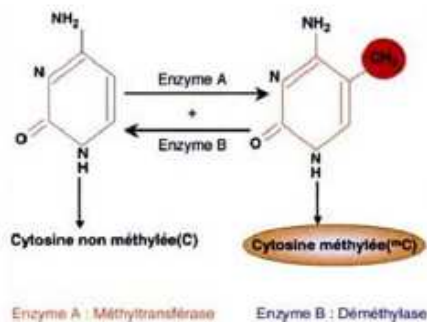
■ Mécanismes épigénétiques

- Modification de l'expression d'un gène
- Méthylation de l'ADN par les ADN méthyltransférases
→ répression transcriptionnelle
- Profil de méthylation maintenu dans les cellules filles
- **Hypométhylation globale** du génome cellulaire mais surtout des régions non régulatrices ou de l'ADN centrimétrique → ↑ l'instabilité chromosomique et ↑ expression des oncogènes
- **Hyperméthylation des gènes suppresseurs** des tumeurs → extinction transcriptionnelle des gènes suppresseurs

Régulation de l'expression du génome HPV

■ Méthylation de l'ADN viral

- Ajout de groupements méthyle aux résidus cytosine au niveau des dinucléotides CpG → inhibition de la transcription par encombrement stérique
- Cancers cervicaux → la plupart des promoteurs viraux sont méthylés



Corrélation entre la méthylation de l'ADN viral et la pathogénicité ?

Oncogénèse

EUROGIN 2013

SS 20-3

DNA METHYLATION MARKERS FOR RISK ASSESSMENT OF HPV-POSITIVE WOMEN

Steenbergen, R.¹, Hesselink, A.¹, Heideman, D.¹, Berkhof, J.², Meijer, C.¹, Snijders, P.¹

1 Department of Pathology, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

2 Department of Epidemiology and Statistics, VU University Medical Center, Amsterdam, the Netherlands

We have assessed the potential value of quantitative methylation-specific PCR (qMSP) for several human genes as triage marker for hrHPV-positive women. First, assays specific for CADM1 and MAL genes were studied on cervical scraping samples using a training/validation set approach. This yielded a combination of two qMSPs (one for CADM1 and one for MAL), which, dependent on the threshold setting, was equally discriminatory for CIN3+ as cytology or cytology/ HPV16/18 genotyping combination in hrHPV-positive women (Hesselink et al., 2011). A further analysis revealed that methylation levels of these genes increased proportional to the severity and duration of CIN lesions and were highest in cervical cancer samples (Bierkens et al., 2013). Thus, high methylation levels of these genes seem to reflect the presence of advanced CIN lesions and cervical cancer.

CADM1 : Cell Adhesion molecule 1 → gène suppresseur de tumeur

MAL : Myelin and lymphocyte protein → synthèse de la myéline dans le système nerveux et différenciation des lympho T

Hyperméthylation de CADM1 et MAL → corrélation avec le degré des lésions CIN3 et aussi performant que cytologie+ test HPV



REPONSE IMMUNITAIRE



Réponse immunitaire face aux HPV

■ Réponse immunitaire cellulaire

- Via les cellules présentatrices de l'antigène (Langerhans)
- Activation des **LT CD4 +** (rôle central de la réponse immunitaire) et **LT CD8 +** (réponse cytotoxique)
- Rôle de la réponse **LT CD4+** dans la régression des lésions
- Réponse **LT CD4+ +++++** : infection asymptomatique, lésions de bas grade, CIN 3 et disparaît en cas de cancer invasif

Réponse immunitaire face aux HPV

■ Réponse immunitaire humorale

- Réponse humorale naturelle faible
- Anticorps neutralisant le virus dirigés contre L1
- Bloque la pénétration du virus dans l'épithélium
- Titre faible d'IgA-S par rapport aux IgG systémiques
- Etude de séroprévalence en Angleterre chez des femmes et des hommes 10-49 ans (Desai S et al, Sex transm Dis 2011)

	Prévalence des anticorps sériques			
	HPV 6	HPV 11	HPV16	HPV18
Femmes	16.4%	5.7%	14.7%	6.3%
Hommes	7.6%	2.2%	5%	2%



HPV et échappement au système immunitaire

- Peu d'exposition du virus au système immunitaire de l'hôte
- Diminution de la synthèse de l'INF α
- Diminution de la production de certaines cytokines (IL8, IL18) impliquées dans le recrutement des cellules immunitaires par les oncoprotéines E6 et E7
- Diminution de l'expression des molécules du CMH I au niveau des cellules tumorales



**PREVENTION DU CCU ET
NOUVELLES STRATEGIES DE
DEPISTAGE DU CCU**



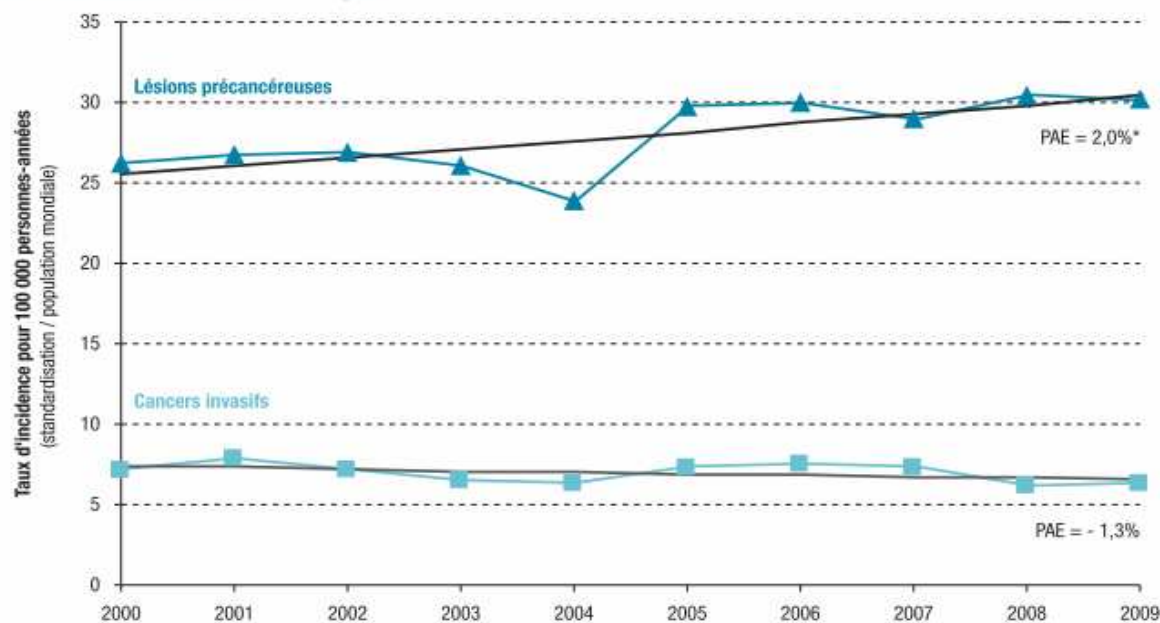
Prévention du CCU

- Vaccination prophylactique recommandée en France
 - Jeunes filles de 11 à 14 ans avec rattrapage pour les jeunes filles de 15 à 19 ans révolus
 - Taux de couverture de 30% en France
- Stratégie de dépistage en France :
 - Frottis cervico-utérin (FCU)
 - Femmes âgées entre 25 et 65 ans
 - Tous les 3 ans après 2 frottis normaux espacés de 1 an
 - Test HPV prescrit dans le triage des frottis atypiques (ASC-US) (recommandations ANAES 2003)

Prévention du CCU

- Efficacité du dépistage par FCU
 - ↓ incidence des cancers invasifs
 - ↑ incidence des lésions précancéreuses

Évolution de l'incidence des lésions précancéreuses et des cancers invasifs du col de l'utérus, entre 2000 et 2009, dans les registres des cancers français*



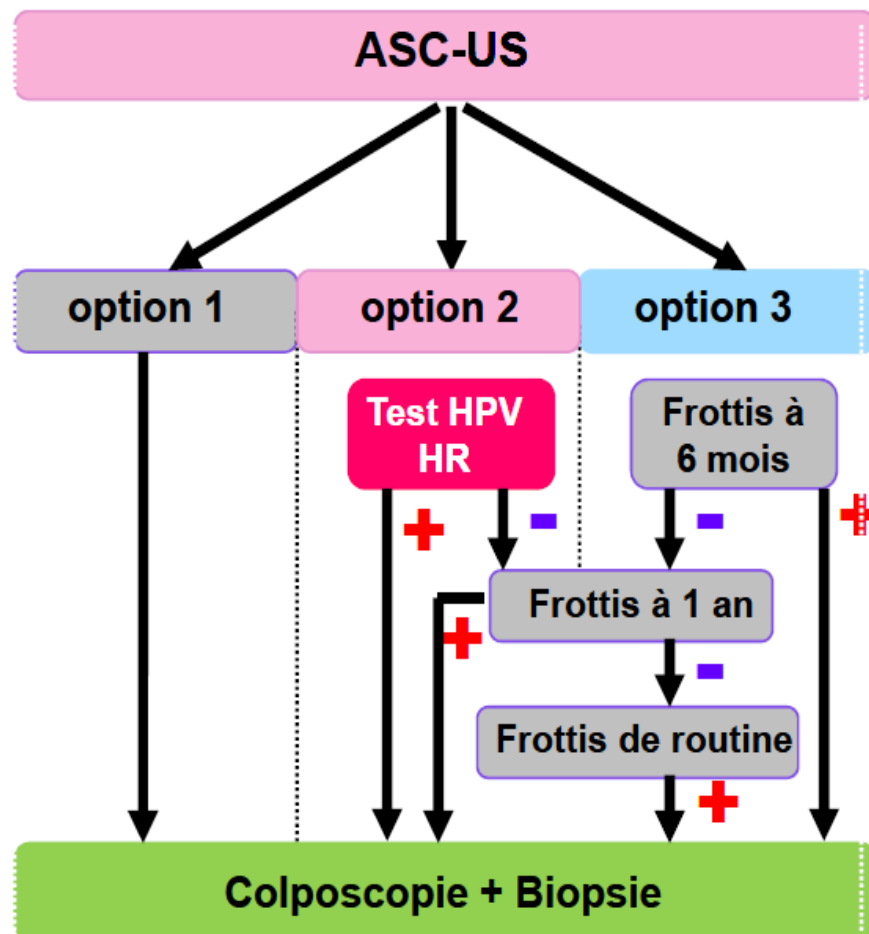
* Départements : Doubs, Hérault, Isère, Loire-Atlantique, Manche, Bas-Rhin, Haut-Rhin, Somme et Tarn.

* Évolution statistiquement significative.

PAE : pourcentage annuel d'évolution ; PA : personnes-années.

Algorithme décisionnel en cas de frottis ASC-US

(recommandations HAS)



Seule indication recommandée
par l'HAS
Et donc seule indication à la
nomenclature des actes de
biologie médicale
B140

(NABM, arrêté du 19 mars 2004)





Test HPV

- Méthodes directes

- Pas de culture cellulaire classique possible
- Microscopie électronique : détection de particules virales dans l'épithélium

- Méthodes indirectes

- Pas de sérologie HPV disponible

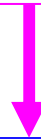


Test HPV

- **Apport de la biologie moléculaire +++++**
 - **Détection ADN HPV**
 - par hybridation : test Hybrid capture (Digene)
 - par PCR
 - Protocole maison ou commerciale (Abbott, Roche, Eurobio....)
 - **Génotypage HPV**
 - Hybridation inverse : Inno-Lipa HPV test
 - Puce à ADN : Papillocheck, Genomica
 - Séquençage
 - **Détection des ARNm HPV**
 - Test Nuclisens (Biomérieux)
 - Test Aptima (Hologic)

Dépistage organisé du CCU

Dépistage Individuel (DI) volontaire et spontané



Couverture du dépistage du cancer du col insuffisante
en France (58%)

Situation très hétérogène sur le territoire français



En 2003, recommandation de l'UE pour la mise en place du
dépistage organisé (DO)
Objectif = 80% de couverture du dépistage

DO = FCU est recommandé et proposé à intervalles réguliers

Dépistage organisé en Europe

Programmes de dépistage organisé (DO) du cancer du col de l'utérus couvrant l'ensemble du territoire national dans les pays d'Europe en 2013

Pays	Incidence*	Niveau d'organisation*	Années de démarrage*	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 [†]	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
Lituanie	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

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

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

* 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.

† NC : Non communiqué.

* Régional seulement.

Etat des lieux du DO en France

- **Dépistage organisé** : mis en place dans **13 départements**
- Organisation du dépistage par 9 structures de gestions :
3 pérennes (Alsace, Isère, Martinique) et 6 sites pilotes
(Auvergne, Cher, Indre et Loire, Maine et Loire, la
réunion, val de marne)
- **13,4% de la population cible** des femmes 25-65 ans →
2,37 millions de femmes n'ayant pas réalisé de FCU
dans les 3 dernières années

1 lettre d'incitation au dépistage



1 lettre de relance dans les 9 à 12 mois
si pas de dépistage réalisé

Etat des lieux du DO en France

Taux standardisés de couverture de dépistage du col de l'utérus (exclusions prises en compte), part estimée due au programme pour la période 2010-2012 et taux de participation dans les 12 mois suivant une incitation réalisée dans la période 2010-2012 ou suivant une relance, France

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

¹ ND : 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.

Impact positif du programme de DO

16,4%

9,9%

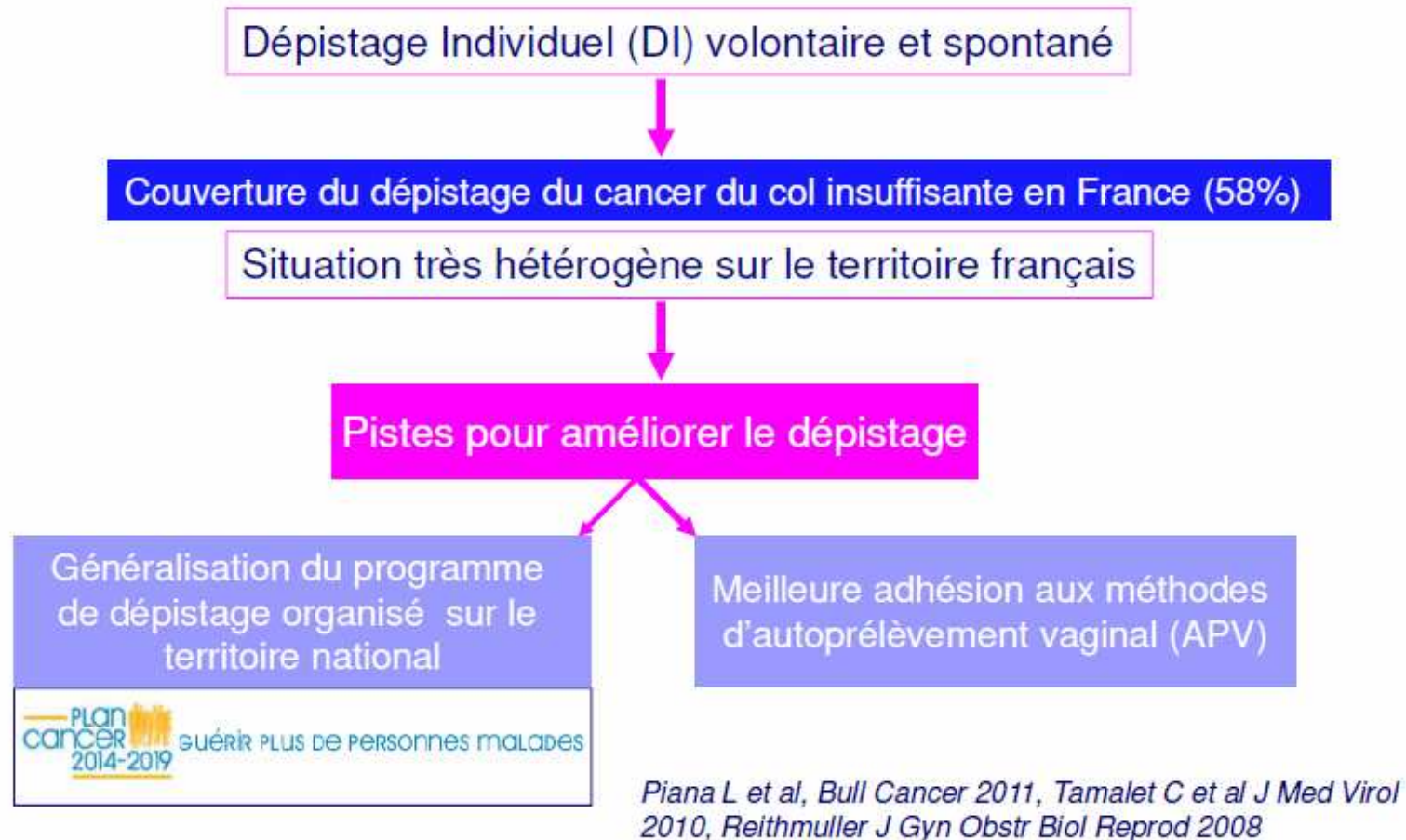
280 000 femmes ont réalisé un dépistage suite au DO

Etat des lieux du DO en France



- Objectif 1 : favoriser des diagnostics plus précoces
 - Faire reculer les inégalités face au CCU et réduire son incidence
- Généralisation du programme de dépistage organisé sur le territoire national
 - Action 1.1 : permettre à chaque femme de 25 à 65 ans un accès à un dépistage régulier du CCU
 - Objectif : atteindre 80% de couverture pour le dépistage
- Amélioration de la couverture vaccinale HPV
 - Action 1.2 : campagne d'information, gratuité du vaccin...
 - Objectif : atteindre 60% de couverture vaccinale

Nouvelles stratégies de dépistage





Nouvelles stratégies de dépistage

■ Preuves solides et croissantes en faveur de nouvelles stratégies de dépistage basées sur la détection des HPV HR +++ :

- meilleure sensibilité pour détecter les lésions de haut grade (20 à 25 % >frottis)
- VPN très élevée permettant d'espacer l'intervalle entre 2 tests : garantie de protection contre les CIN3 sur le long terme
- spécificité plus faible ou équivalente au frottis selon les tests pouvant être compensée par des algorithmes appropriés incluant une cytologie réflexe ou un génotypage 16 et 18

Pour revue Arbyn *et al* et Cuzick *et al*, Vaccine 2012 ; Congrès Eurogin, Nov 2013

Nouvelles stratégies de dépistage

- Sensibilité de l'APV pour la détection des lésions CIN2+
 - Méta-analyse sur 36 études et 154 556 femmes incluses

	Number of studies	Relative sensitivity (95% CI)	Relative specificity (95% CI)
HPV on self-samples vs cytology (ASC-US or worse) on clinician-taken samples			
Outcome of CIN2 or worse	19	0.95 (0.91-0.99)*	0.92 (0.90-0.94)*
Outcome of CIN3 or worse	6	0.99 (0.94-1.06)	0.98 (0.97-0.99)*
HPV on self-samples vs cytology (LSIL or worse) on clinician-taken samples			
Outcome of CIN2 or worse	11	1.14 (1.07-1.21)*	0.88 (0.86-0.90)*
Outcome of CIN3 or worse	6	1.19 (1.09-1.29)*	0.90 (0.87-0.94)*
HPV on self-samples vs HPV on clinician-taken samples			
Outcome of CIN2 or worse	34	0.88 (0.85-0.91)*	0.96 (0.95-0.97)*
Outcome of CIN3 or worse	12	0.89 (0.83-0.96)*	0.96 (0.93-0.99)*

ASC-US=atypical squamous cells of undetermined significance. CIN2=cervical intraepithelial neoplasia of grade 2. CIN3=cervical intraepithelial neoplasia of grade 3. HPV=assay that picks up high-risk types of the human papillomavirus. * Statistically significant (p<0.05).

Table 3: Pooled relative sensitivity and specificity of human papillomavirus testing on self-samples versus cytology or human papillomavirus testing on clinician-taken samples, by grade of cervical intraepithelial neoplasia



Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis

Marc Arbyn, Freija Verdoodt, Peter J F Snijders, Viola M J Verhoef, Eero Suonio, Lena Dillner, Silvia Minozzi, Cristina Bellisario, Rita Banzi, Fang-Hui Zhao, Peter Hillemanns, Ahti Anttila

Autre méthode d'AP : l'urine

- Etude PaPU
 - Étude multicentrique (Angers, Brest, Limoges)
 - Comparaison de la détection de l'ADN HPV dans le prélèvement vaginal et dans les urines

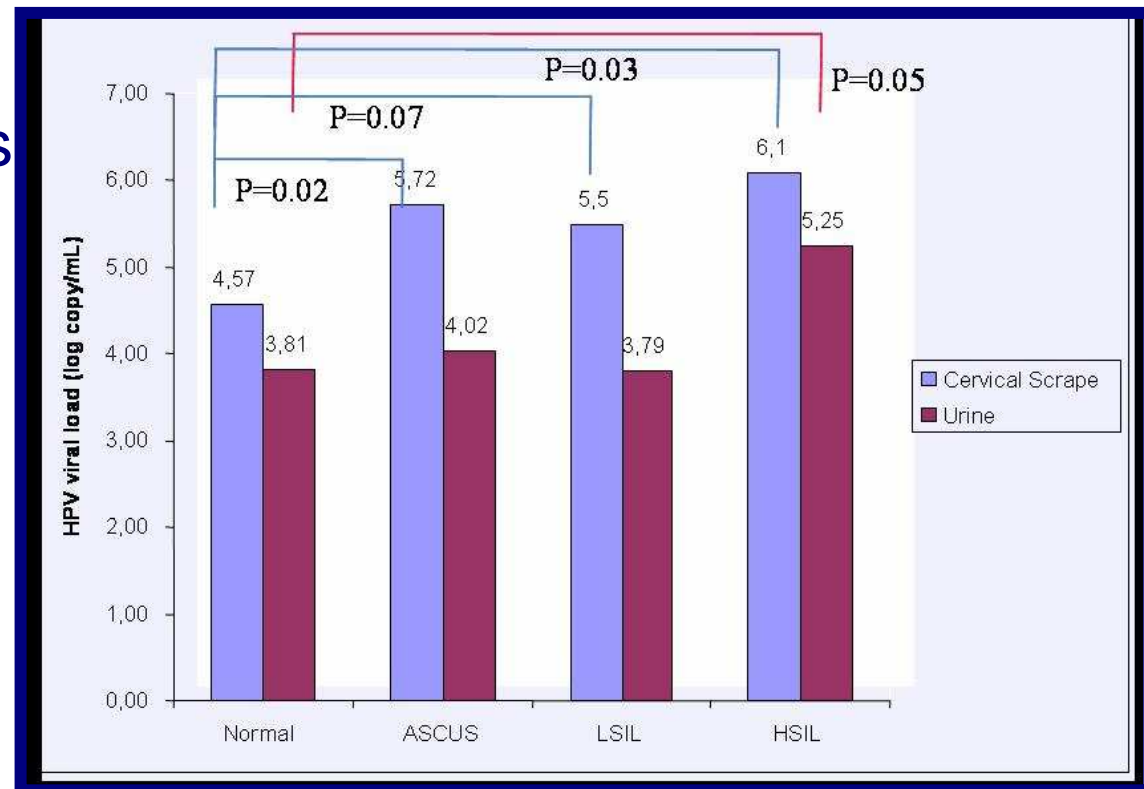


		Urine		Total
		Positive	Négative	
Prélèvement vaginal	PCR HPV			
	Positive	94	19	113
	Négative	4	113	117
	Total	98	132	230

Concordance = 90% (Cohen's Kappa 0,80, IC95% 0,62-0,98)

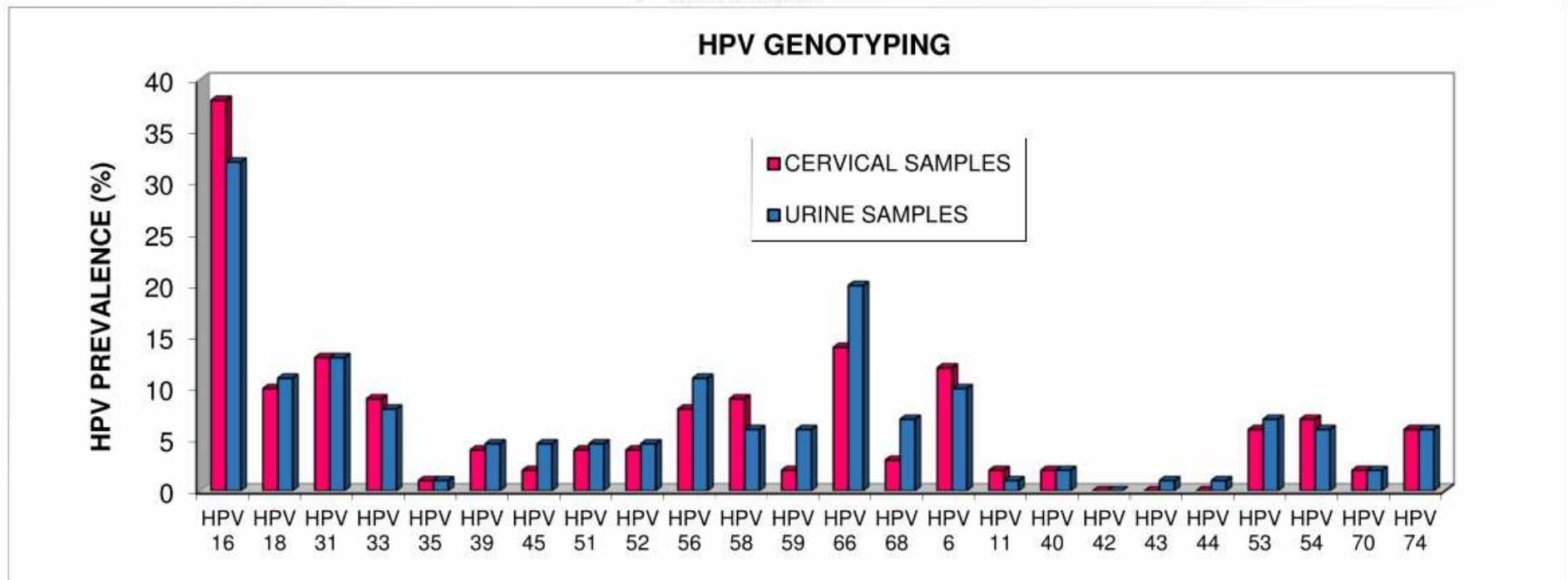
Etude PaPU

- Corrélation entre la charge virale HPV dans les urines et le PV et la cytologie
- Sensibilité de détection des lésions cervicales de 97% (VPN =96%)



Etude PaPU

- Excellente corrélation du génotypage HPV entre urine et PV ($k=0,95$ IC95% [0,80-1] pour HPV HR et $k=0,97$ IC95% [0,85-1] pour HPV LR)

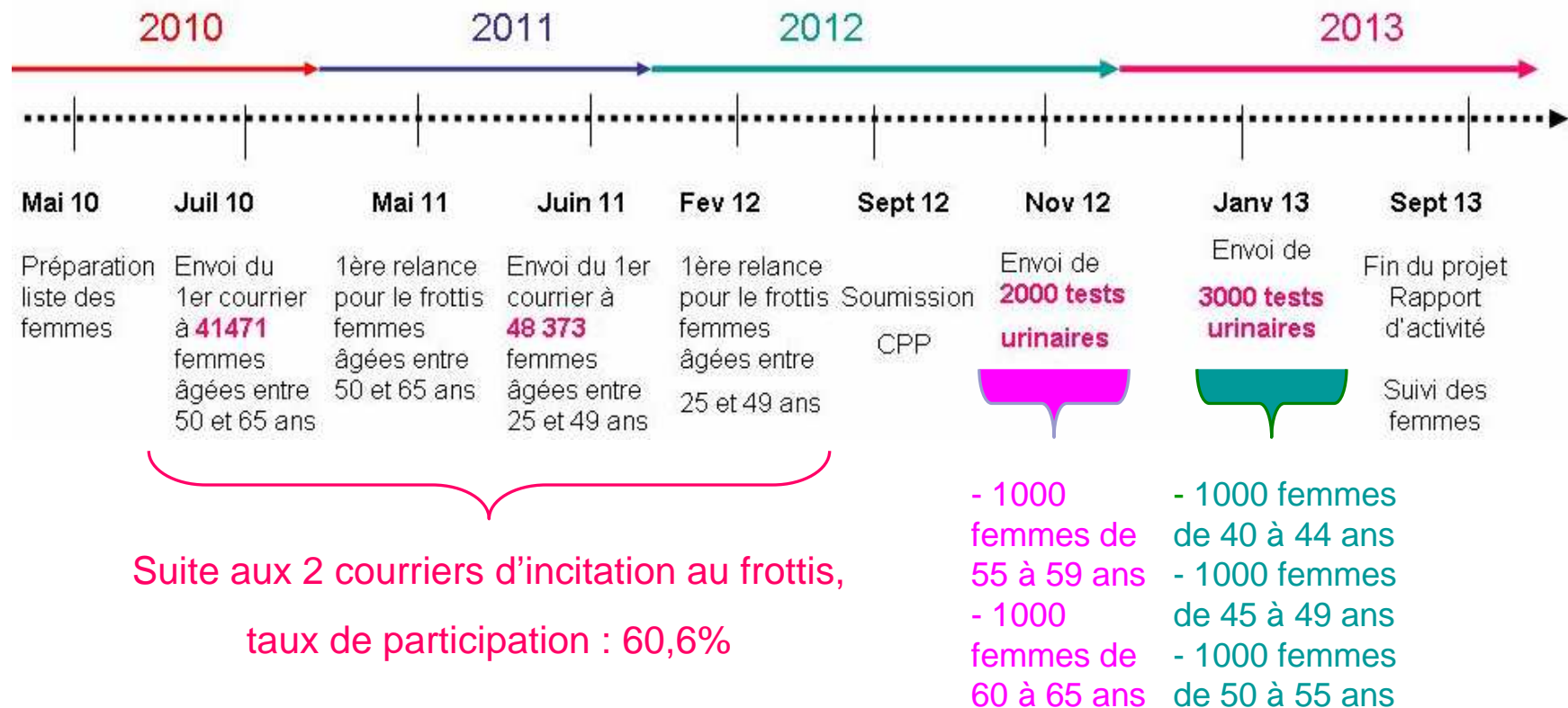


Etude CaPU

- Proposition d'un **test HPV urinaire** chez les femmes ne souhaitant pas bénéficier du dépistage classique par le frottis cervico-utérin
 - Collaboration avec **Cap Santé 49** dans le cadre du dépistage intégré du cancer du col utérin en Maine et Loire
 - Financé par **La Ligue départementale de lutte contre le Cancer**
 - Réalisé par le laboratoire de **Virologie du CHU d'Angers**

- Augmenter la **couverture** du dépistage
- Mesurer **l'adhésion au prélèvement urinaire** pour la recherche d'HPV

Méthodes



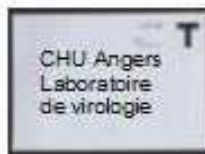


Comment réaliser votre prélèvement d'urine ?



Etape 1 : vérifier le contenu de l'enveloppe

1 Lettre T à renvoyer au CHU
1 enveloppe à bulle



1 flacon de prélèvement



Nom Prénom de la patiente pré-remplis
Adresse pré-remplie

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

Nom
Prénom
DN
Date de 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



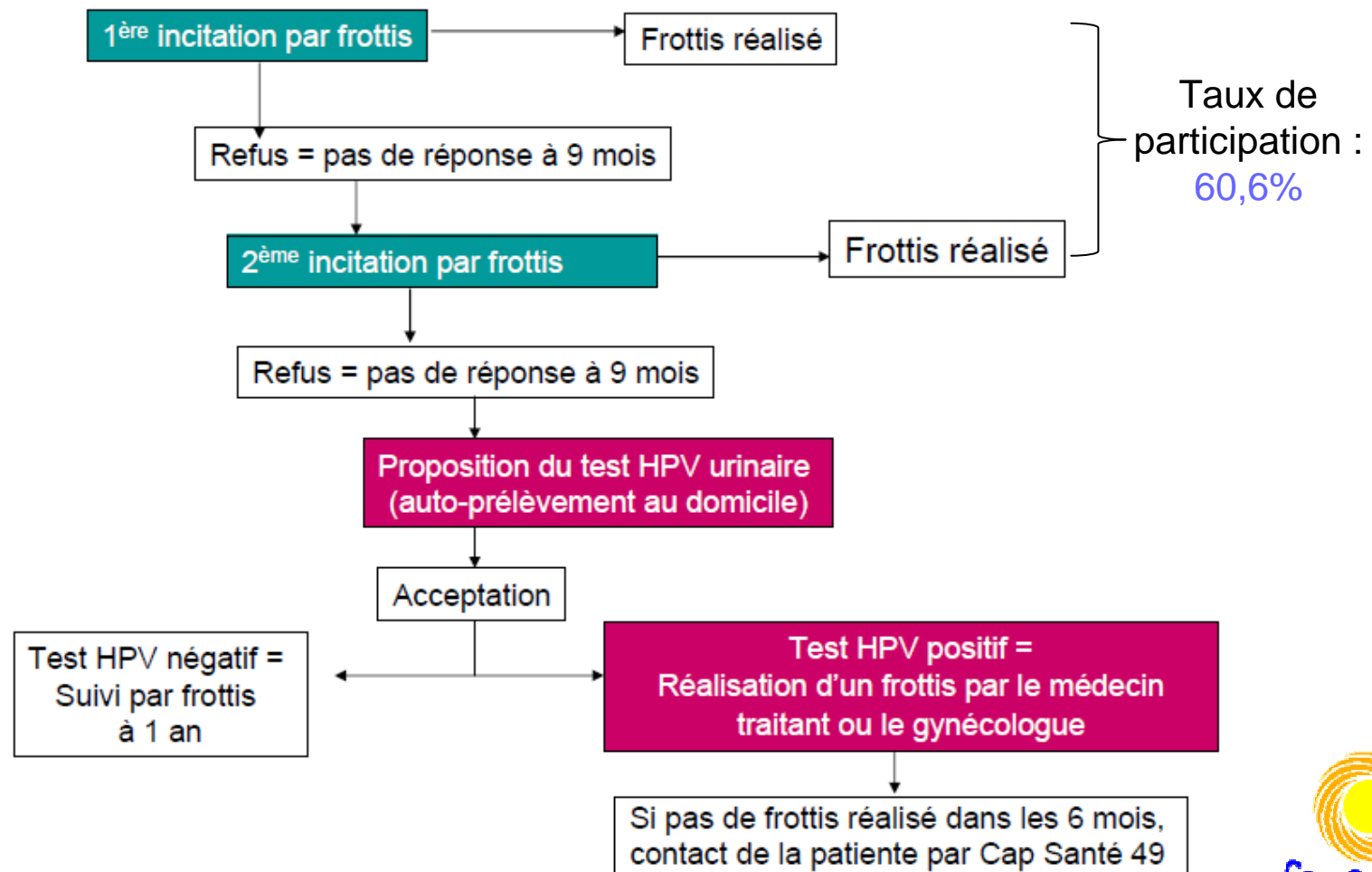
NB : Evitez les envois le dimanche et jour férié. Au besoin, garder le tube d'urine au réfrigérateur avant l'envoi si celui-ci est reporté au lendemain (Si vous souhaitez obtenir des informations complémentaires concernant ce protocole, vous pouvez contacter le laboratoire de virologie du CHU d'Angers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

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



Méthodes

Femmes âgées entre 25-65 ans sans suivi gynécologique depuis plus de 3 ans



Méthodes

5000 femmes

Test HPV urinaire réalisé à domicile

PCR Abbott HPV Real Time High Risk :
détection HPV 16, 18 & 12 autres HR HPV
(HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68)

Abbott m2000 system

Consolidated solution for high volume laboratories

Providing you with true consolidation and automation:

- Automation of multiple steps: HPV Detection and Genotyping
- Closed homogeneous RealTime assay
- Consolidation of Women's Health assays including CT/NG and CT

Reducing:

- Staff hands-on time
- Potential contamination

Eliminating:

- Subjective interpretation
- Additional instrumentation

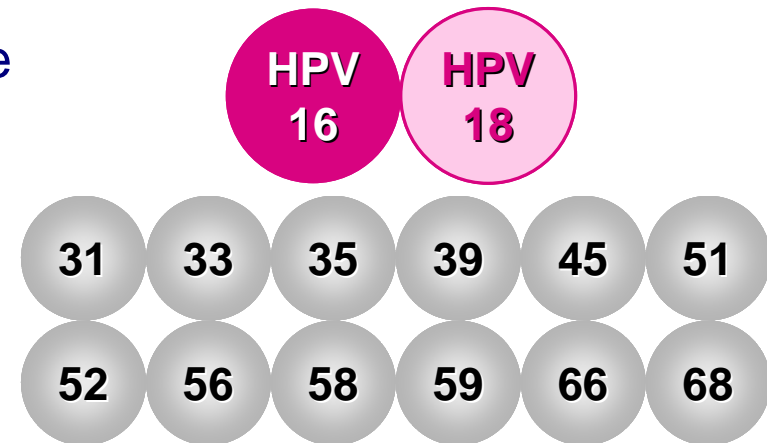


Méthodes



■ HPV RealTime High Risk

- Détection qualitative basée sur l'ADN de 14 génotypes de HPV à haut risque :
- Génotypage sélectif de
 - HPV 16
 - HPV 18
- Détection de
 - 12 HPV supplémentaires à haut risque



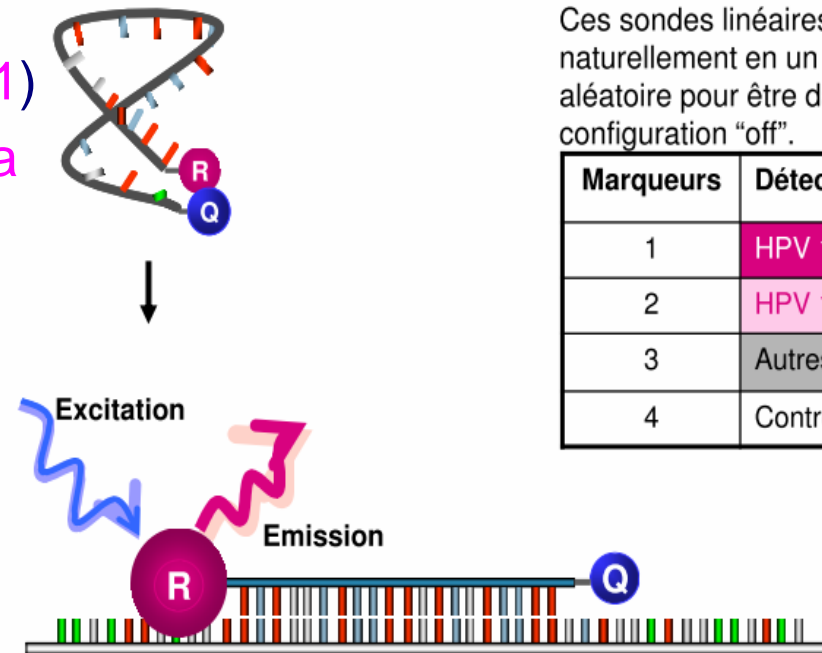
Méthodes

■ HPV RealTime High Risk

■ Amorces

- Cible HPV : mélanges d'amorces (région conservée L1)
- Contrôle interne = Gène de la B globine humaine

Sondes linéaires simple brin



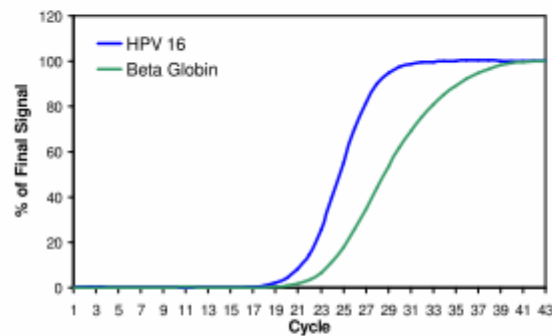
Ces sondes linéaires se replient naturellement en un enroulement aléatoire pour être dans la configuration "off".

Marqueurs	Détecte
1	HPV 16
2	HPV 18
3	Autres HPV's HR
4	Contrôle Interne

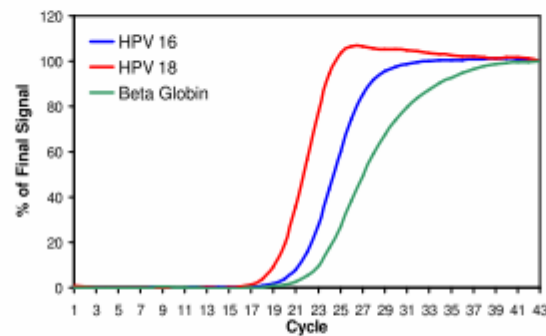
Méthodes

■ HPV RealTime High Risk

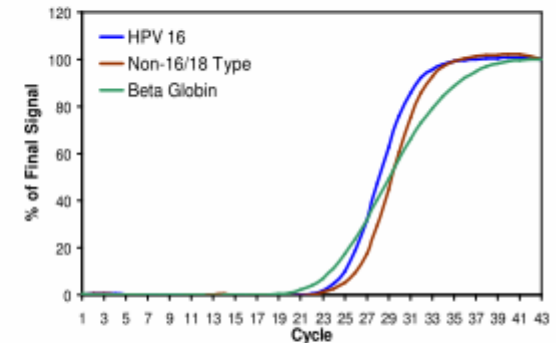
Détection des infections simples et mixtes



HPV HR détecté
HPV 16



HPV HR détectés
HPV 16 et HPV 18

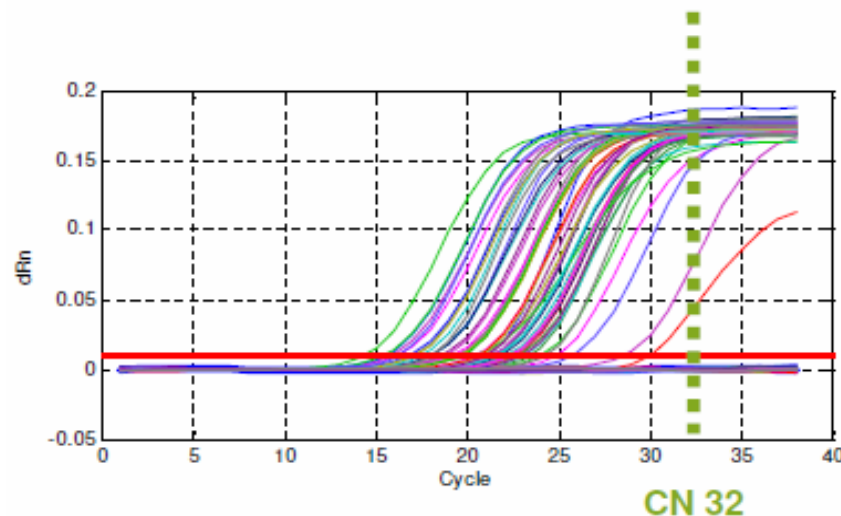


HPV HR détectés
HPV 16 et autres HPV HR

Méthodes

■ HPV RealTime High Risk

Signal de l'HPV à Haut Risque

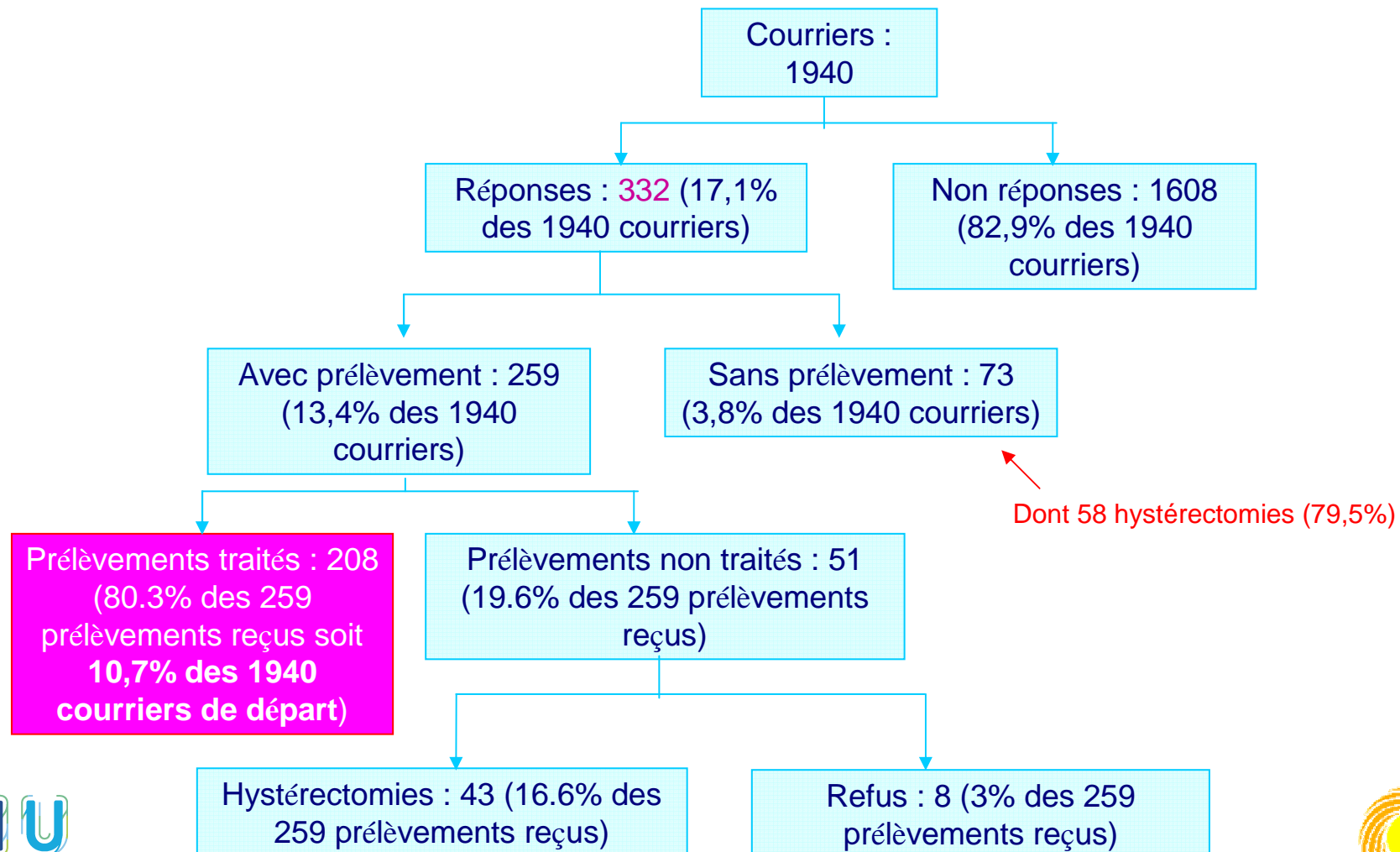


HPV Haut Risque
Seuil

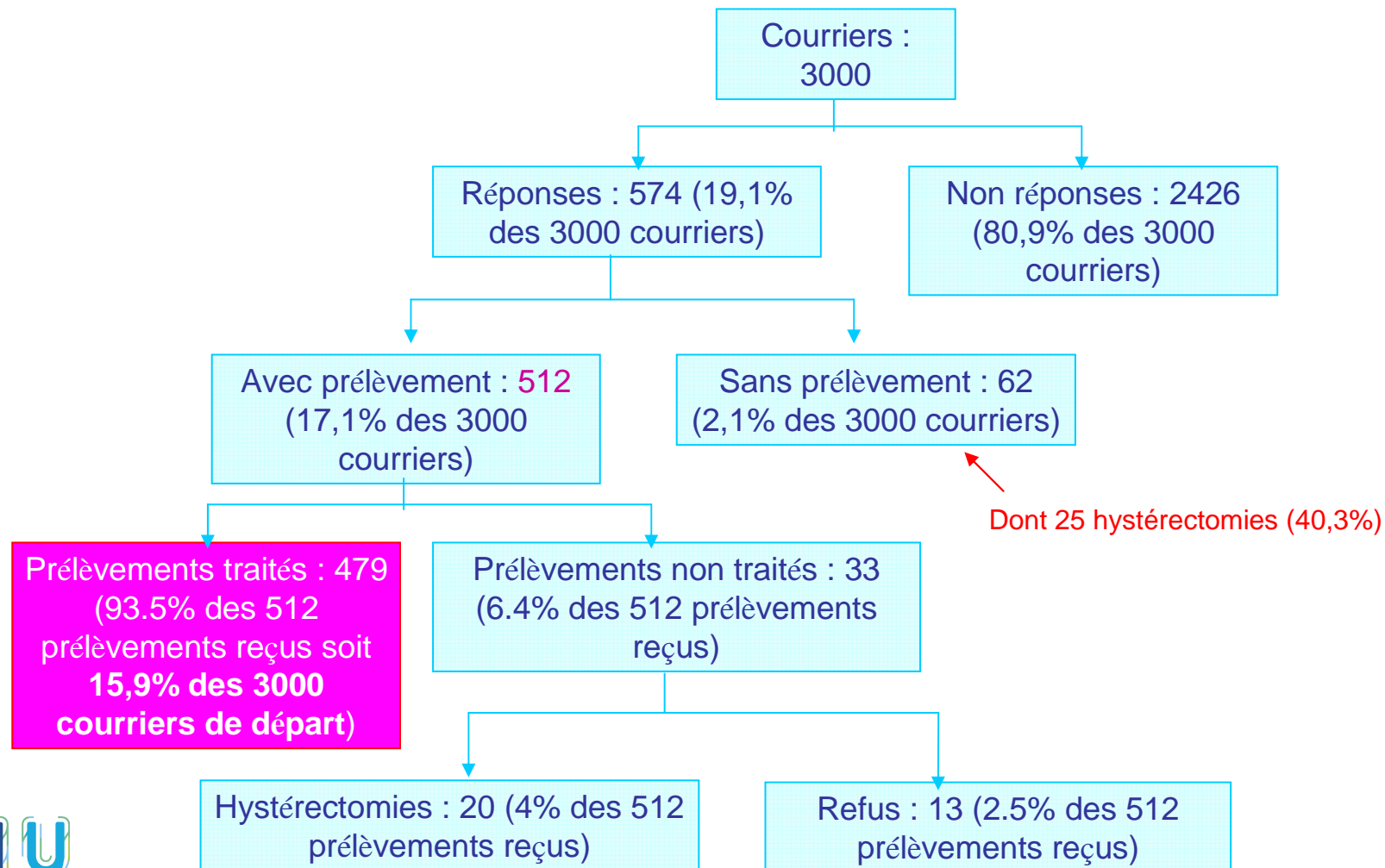
Basé sur l'analyse des
échantillons CLINIQUES

Le seuil a été déterminé en testant un grand nombre d'échantillons cliniques (~1000 échantillons d'une population ayant un frottis du col anormal, avec ~250 échantillons >CIN2).

Résultats : taux de participation 1^{er} envoi



Résultats : taux de participation 2ème envoi

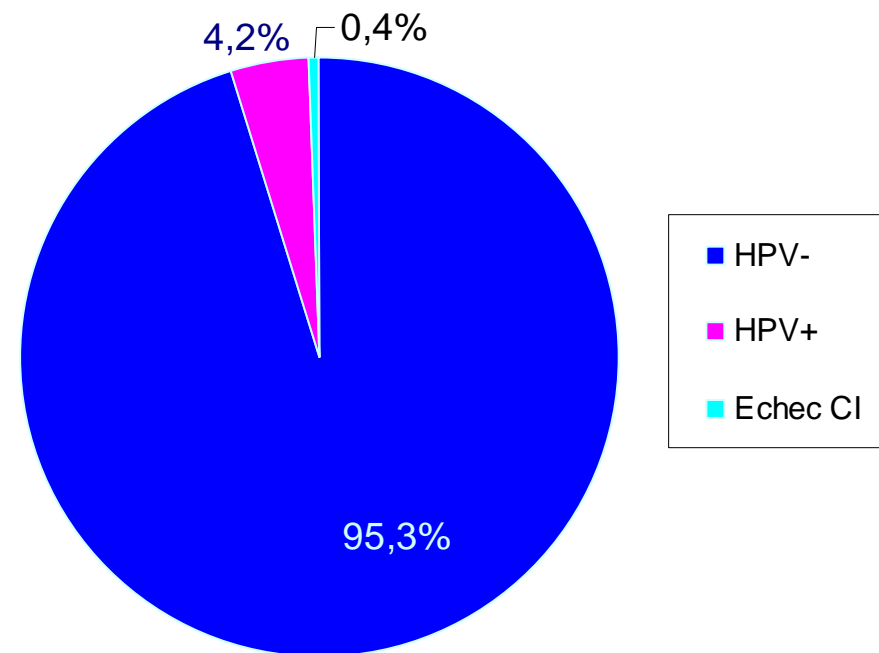


Prévalence HPV

■ Prévalence HPV sur 687 échantillons

□ RealTime High Risk HPV

HPV indétectable	655	95,3%
HPV positif	29	4,2%
Echec d'amplification du contrôle cellulaire	3	0,4%

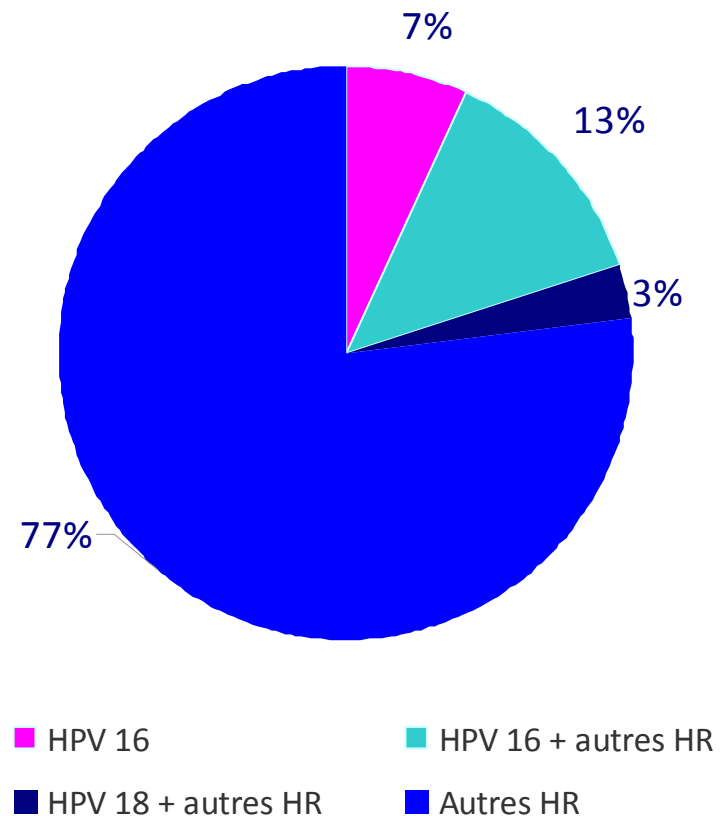


Répartition des génotypes

■ Répartition des génotypes

□ RealTime High Risk HPV

HPV 16	2	7%
HPV 16 + autres HPV HR	4	13%
HPV 18 + autres HPV HR	1	3%
Autres HPV HR	22	77%

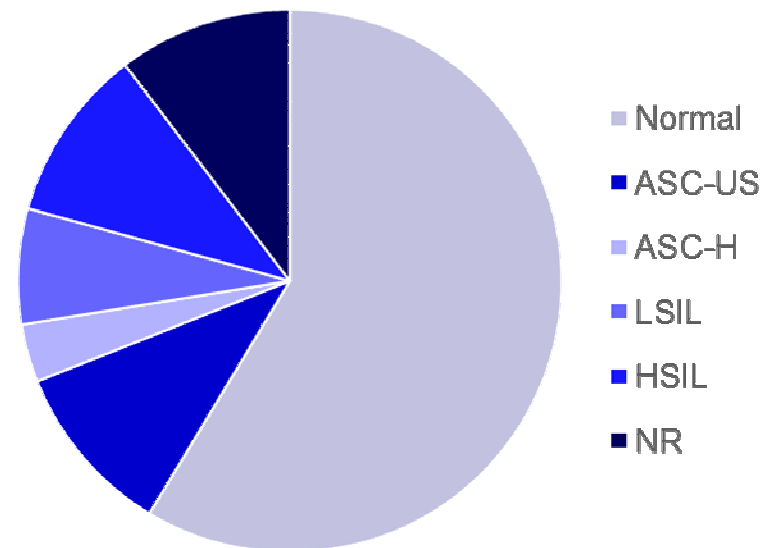


Résultats des FCU

■ Résultats des FCU chez les femmes avec un test HPV urinaire positif :

- 27 FCU réalisés + 1 colpo
- 1 femme réticente
- **9 FCU pathologiques**

ASC-US	3
ASC-H	1
LSIL	2
HSIL	3



3 patientes avec des lésions CIN3 confirmées

Conclusion

- Un test HPV urinaire pourrait être proposé comme méthode alternative au FCU :
 - pour les femmes refusant le FCU
 - pour les femmes ayant un faible accès aux soins
 - pour les femmes à risque (infection VIH)

Page 1 of 9


BMJ 2014;349:g5264 doi: 10.1136/bmj.g5264 (Published 16 September 2014)

RESEARCH

Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: systematic review and meta-analysis

 OPEN ACCESS

Neha Pathak *academic foundation year 2 doctor*¹, Julie Dodds *senior clinical trials manager*¹, Javier Zamora *senior lecturer in perinatal statistics*^{1,2}, Khalid Khan *professor of women's health and clinical epidemiology*¹



Accuracy of urinary human papillomavirus testing for presence of cervical HPV: systematic review and meta-analysis

 OPEN ACCESS

Neha Pathak *academic foundation year 2 doctor*¹, Julie Dodds *senior clinical trials manager*¹, Javier Zamora *senior lecturer in perinatal statistics*^{1,2}, Khalid Khan *professor of women's health and clinical epidemiology*¹

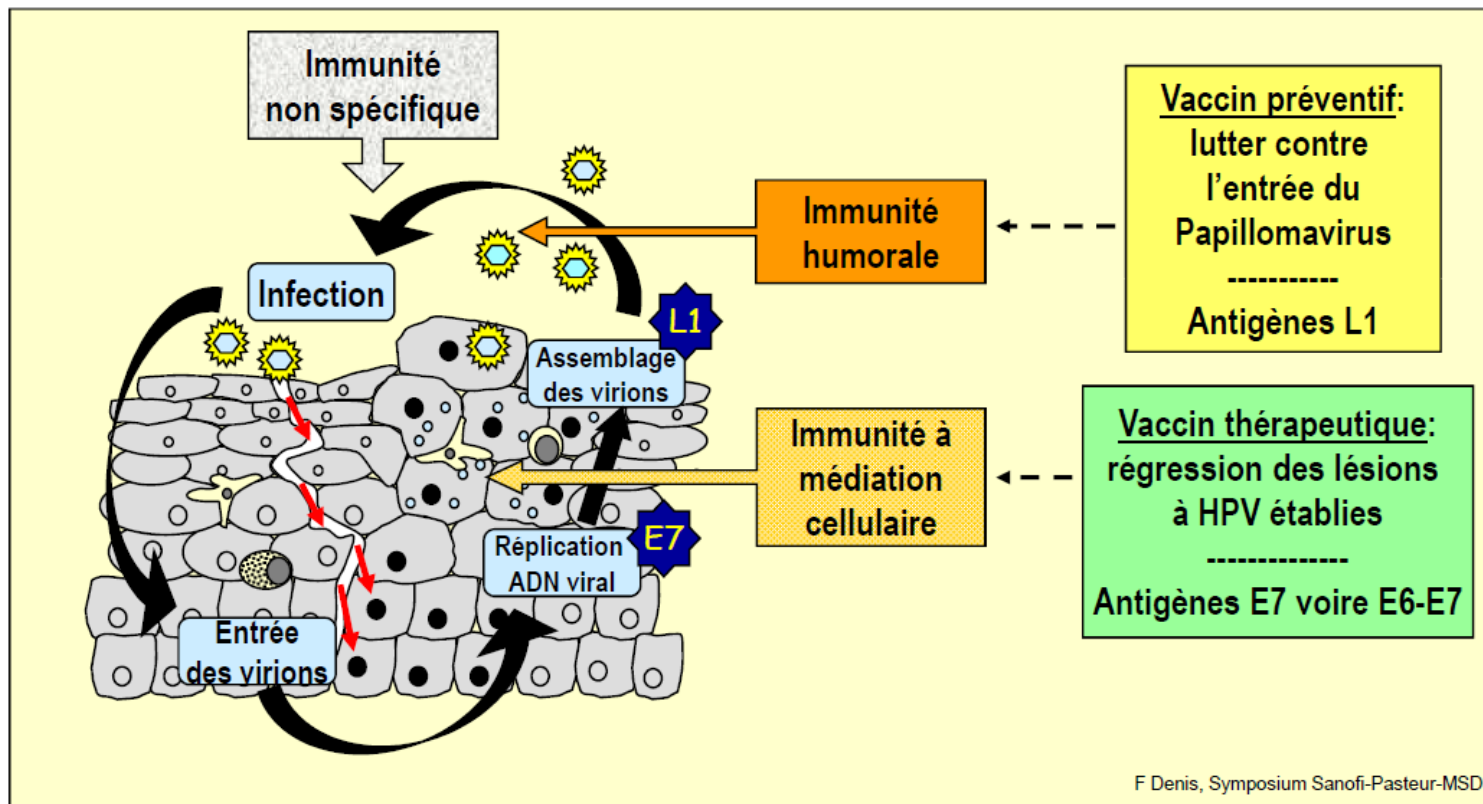
Results 16 articles reporting on 14 studies (1443 women) were eligible for meta-analysis. Most used commercial polymerase chain reaction methods on first void urine samples. Urine detection of any HPV had a pooled sensitivity of 87% (95% confidence interval 78% to 92%) and specificity of 94% (95% confidence interval 82% to 98%). Urine detection of high risk HPV had a pooled sensitivity of 77% (68% to 84%) and specificity of 88% (58% to 97%). Urine detection of HPV 16 and 18 had a pooled sensitivity of 73% (56% to 86%) and specificity of 98% (91% to 100%). Metaregression revealed an increase in sensitivity when urine samples were collected as first void compared with random or midstream ($P=0.004$).

Conclusions Testing urine for HPV seems to have good accuracy for the detection of cervical HPV, and testing first void urine samples is more accurate than random or midstream sampling. When cervical HPV detection is considered difficult in particular subgroups, urine testing should be regarded as an acceptable alternative.

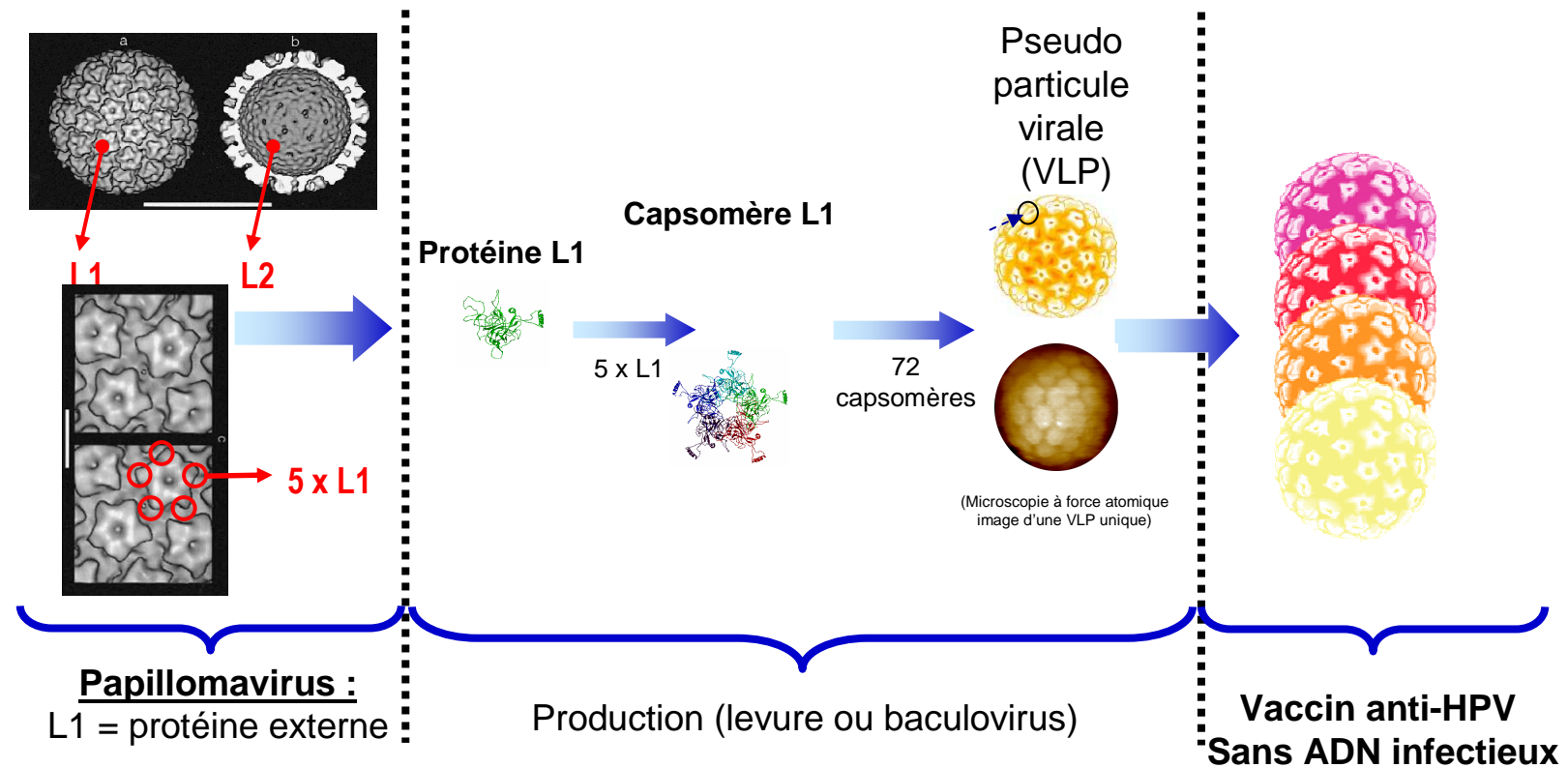


VACCINATION

Vaccin préventif et thérapeutique



Vaccin prophylactique

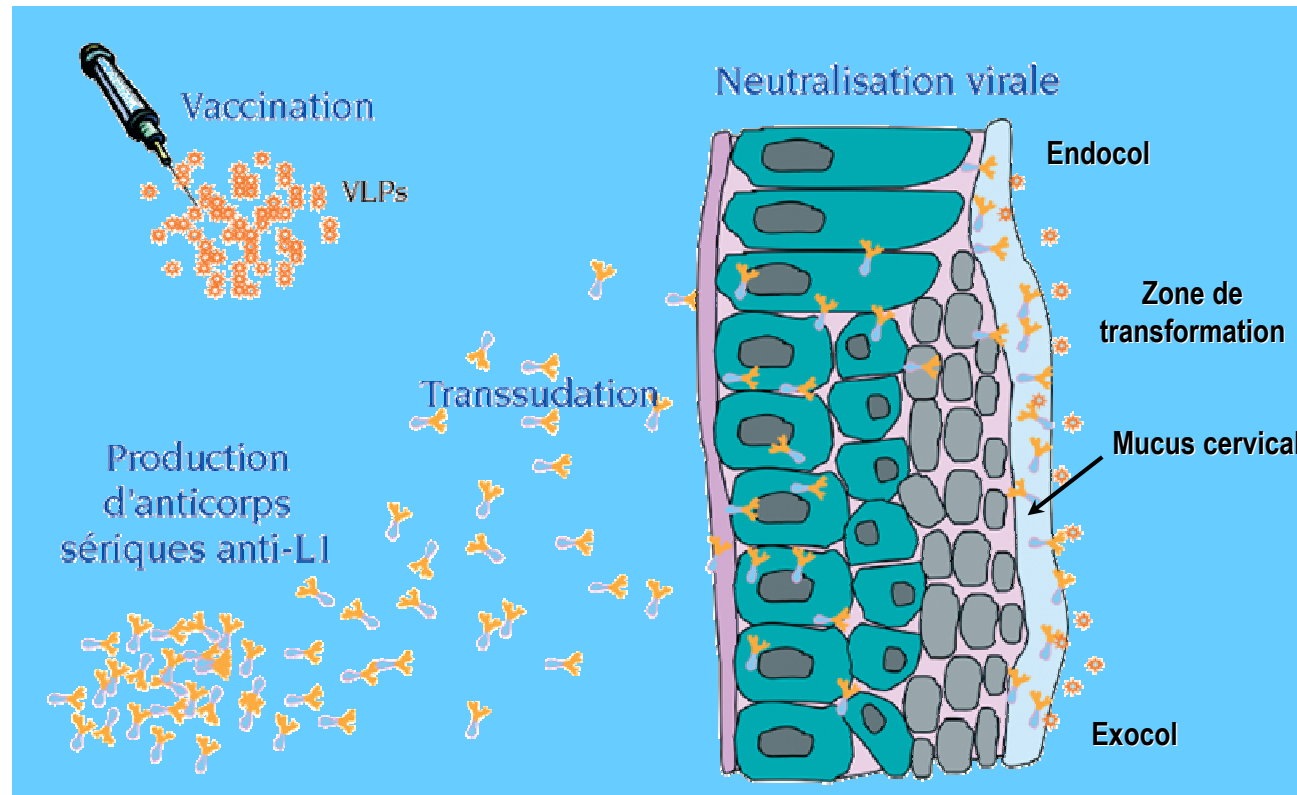


La protéine L1, produite dans la levure ou dans des cellules d'insectes est capable de s'auto-assembler en pseudo particules virales non infectieuses

*Schiller JT, Davies P. Nat Rev Microbiol 2004;2:343-7.
P. Coursaget, A. Touzé. Virologie, Vol 10 n°5 sept-oct 2006*

Vaccin prophylactique

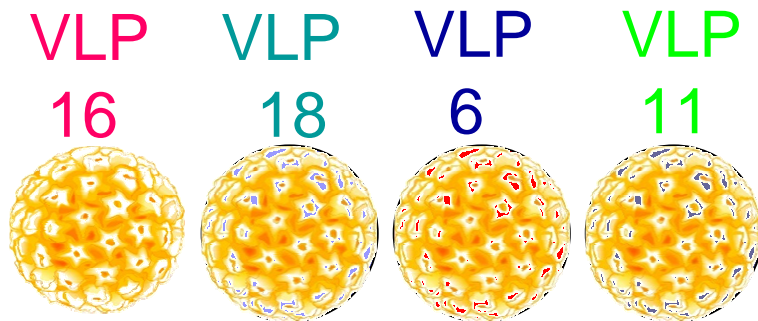
■ Principe



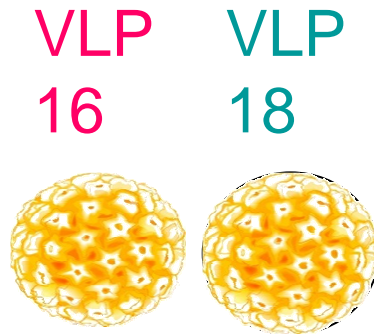
Neutraliser les particules virales pour empêcher les maladies génitales associées aux Papillomavirus humain de type 6, 11, 16 et 18

Vaccin prophylactique

■ CANDIDATS VACCINS



Pasteur MSD (GARDASIL®)



GlaxoSmithKline (CERVARIX®)



Recommandations de la vaccination

- Le Comité Technique des vaccinations et le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France recommandent :
 - Vaccination proposée aux **jeunes filles de 11-14 ans**
 - Rattrapage pour les jeunes filles et jeunes femmes de 15 à 19 ans

Dans la perspective de la prévention des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus ainsi que pour la prévention des condylomes vulvaires

Vaccin prophylactique

Nouveau
Remb. Séc. Soc.

65%

Dans les populations concernées par
les recommandations vaccinales⁽²⁾



GARDASIL®
Vaccin Papillomavirus Humain
Types 6, 11, 16, 18
Recombinant, adsorbé

Indications : Gardasil® est un vaccin pour la prévention des dysplasies de haut grade du col de l'utérus (CIN 2/3), des cancers du col de l'utérus, des dysplasies de haut grade de la vulve (VIN 2/3) et des verrues génitales externes (condylomes acuminés) dus aux Papillomavirus Humains (HPV) de types 6, 11, 16 et 18. L'indication est fondée sur la démonstration de l'efficacité de Gardasil® chez les femmes adultes de 16 à 26 ans et sur la démonstration de l'immunogénicité de Gardasil® chez les enfants et adolescents de 9 à 15 ans. L'efficacité protectrice n'a pas été évaluée chez les sujets de sexe masculin (voir Propriétés Pharmacodynamiques). Gardasil® doit être utilisé sur la base des recommandations officielles.

Cervarix®
Vaccin Papillomavirus Humain types 16 et 18
(Recombinant, avec adjuvant, adsorbé)

Un nouveau vaccin
spécifiquement
développé
dans la prévention
du cancer du col
de l'utérus

bientôt
disponible

Agissons tous X contre le cancer du col de l'utérus

Cervarix® est indiqué pour la prévention des néoplasies intraépithéliales cervicales de haut grade (CIN de grades 2 et 3) et du cancer du col de l'utérus dus aux Papillomavirus humains (HPV) de types 16 et 18. L'indication est basée sur la démonstration de l'efficacité chez les femmes âgées de 15 à 25 ans vaccinées avec Cervarix® et sur l'immunogénicité du vaccin chez les jeunes filles et les femmes âgées de 10 à 25 ans. Cervarix® doit être administré selon les recommandations officielles.

gsk GlaxoSmithKline

07GAR206 – Septembre 2007

SD
vie



Tableau 1 - Récapitulatif des principales études sur des données d'impact et d'efficacité de la vaccination HPV en population dans différents pays

	Australie	Danemark	Royaume-Uni	Nouvelle-Zélande	Etats-Unis	Suède	Allemagne	Canada
Date d'introduction de la vaccination	2007	2008	2008	2008	2006	2007	2007	2007
Type de programme	Ecoles	Public	Ecoles (Public)	Ecoles		Ecoles	Privé (Public)	Public
Âges cibles filles	12–13 ans	12 ans	12 ans	11–12 ans	11–12 ans	13–17 ans	12–17 ans	9-13 ans
Âges cibles garçons	12-13 ans depuis 2013				11-12 ans depuis 2011			9-26 ans (1 province)
Rattrapage Filles (F) et Garçons (G)	F 14–26 ans (≤2009) G 14–15 ans (≥2014)	F: 13–15 ans (2008–2010)	F 13-17 ans	F 13–20 ans (≤2010)	F 13–21 ans G 13–21 ans (≥2011)			14-26 ans
Couvertures vaccinales chez les JF (3 doses)	70% (Gertig et al 2011) [30]	82% (Baandrup L et al, 2013) [16]	80% (Mesher D et al 2013) [7]	47% (Blakely T 2014) [31]	25% (au moins 1 dose) (Markowitz E et al, 2013) [6]	25% (Leval A et al 2012) [19]	32% (au moins 1 dose) (Hense S 2014) [32]	75% (INSP du Québec 2012) [33]
Réduction de la prévalence HPV vaccinaux	77% chez JF 18-24 ans (2005/07-2010/11) (Tabrizi et al 2012) [3]		67% chez JF 16-18 ans (2010-2012) (Mesher D et al, 2014) [7]		56% chez JF 14-19 ans (2003/06-2007/10) (Markowitz LE et al, 2013) [6]			
Réduction des verrues génitales (JF)	93% chez JF<21 ans (2004-2011) (Ali H et al BMJ 2013) [14]	90% chez JF 16-17 ans (2008-2011) (Baandrup L et al, 2013) [16]		63% chez JF<20 ans (2007-2010) (Oliphant J et al, 2011) [18]	35% chez JF<21 ans (2007-2010) (Bauer et al, 2012) [20]	27% (2006-2010) (Leval 2012) [19]	23% chez JF 15-19 ans (2007-2008) (2007 et 2008) (Mikolajczyk RT 2013) [22]	
Réduction des anomalies de haut-grade.	Oui (Crowe 2014 ; Gertig 2013) [25,26]							Oui (Mahmud SM et al, 2014) [28]
Immunité de groupe chez les hommes	+++ (Tabrizi 2012 et Ali H 2013) [3,14]	+ (Sando N et al, 2013) [15]		++ (Oliphant J et al, 2011) [18]	+ (Bauer HM et al, 2012) [20]			

Vaccin prophylactique

Genital warts in young Australians five years into national human papillomavirus vaccination programme: national surveillance data

 OPEN ACCESS

Hammad Ali *lecturer*¹, Basil Donovan *professor*^{1,2}, Handan Wand *senior lecturer*¹, Tim R H Read *sexual health physician*^{3,4}, David G Regan *senior lecturer*¹, Andrew E Grulich *professor*¹, Christopher K Fairley *professor*^{3,4}, Rebecca J Guy *associate professor*¹

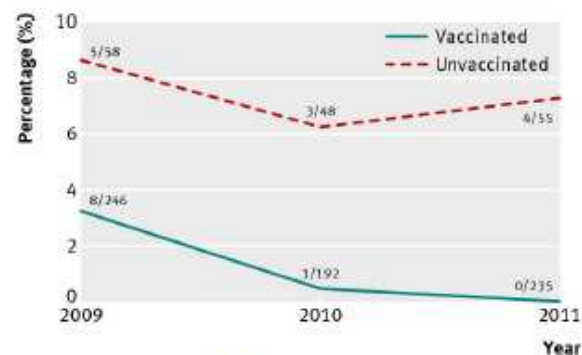


Fig 2 Proportion of Australian born women aged under 21 years diagnosed as having genital warts at first visit to Sydney and Melbourne Sexual Health Centres, by vaccination status, 2009-11. Numbers are number diagnosed as having genital warts/number seen

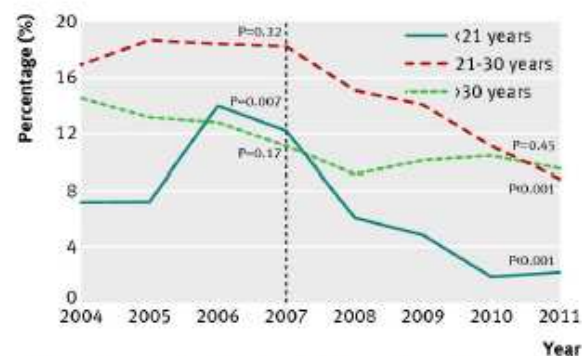


Fig 3 Proportion of Australian born heterosexual men diagnosed as having genital warts at first visit, by age group, 2004-11



Vaccin prophylactique

- En France, la **couverture vaccinale observée est très faible** pour un schéma complet, en baisse depuis 2010 et **< à 25 %** à 16 ans en 2013.
- De plus, on observe une diminution marquée de l'initiation du schéma vaccinal entre 2011 et 2013 (avec une couverture vaccinale à une dose à 15 ans qui diminue de 26 % à 18 %).



Vaccin prophylactique

- Les données de **pharmacovigilance** disponibles, avec un recul de plus de sept ans, tant au plan national qu'international, ne permettent **pas de retenir l'existence d'un lien de causalité entre cette vaccination et les événements indésirables graves** qui lui ont été attribués en France, notamment la sclérose en plaque et d'autres maladies auto-immunes.
 - Ces croyances entretenues par certains médecins et fortement relayées par les médias ont suscité une défiance tout à fait injustifiée vis-à-vis de cette vaccination. Par ailleurs, le HCSP rappelle que les maladies auto-immunes se révèlent avec une fréquence significative à l'adolescence, à l'âge où la vaccination est également recommandée ;



Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

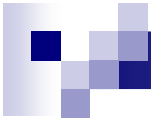
- Dans le contexte de mise en cause de la sécurité d'un vaccin anti-HPV, la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF), association regroupant les praticiens spécialistes des maladies infectieuses, dont l'infection par le virus HPV, souhaite rappeler certaines données factuelles scientifiques :
 - Les données scientifiques démontrent que la vaccination HPV des jeunes filles est efficace pour la prévention des lésions précancéreuses de l'utérus et des cancers de l'utérus.
 - l'analyse de risque effectuée par l'ECDC (European Center for Diseases Control) démontre le bénéfice de cette vaccination en terme de santé publique et ne fait pas apparaître de sur-risque de complication neurologique inflammatoire par rapport à la population non-vaccinée.
 - l'analyse des effets indésirables de cette vaccination, réalisée par la FDA (Food and Drug Agency), ne fait pas apparaître de complications neurologiques inflammatoires.
 - La sclérose en plaque touche chaque année en France 2000 personnes supplémentaires, dont la majorité sont des adultes jeunes, et les 2/3 des femmes.
 - dans l'état actuel des connaissances, aucun lien de causalité n'a été établi entre une vaccination contre le virus HPV et la manifestation d'une maladie neurologique inflammatoire chronique.
 - La plainte déposée contre le Gardasil, par une jeune fille souffrant d'une maladie évoquant une sclérose en plaques, ne doit en aucun cas remettre en cause la politique vaccinale initiée en France, à l'instar de ce qui est recommandé dans les autres pays développés, au regard du bénéfice en termes de lutte contre le cancer.

- Professeur Christian RABAUD
- Président de la SPILF
secrétariat : spilf@infectiologie.com
rabaud-christian@bbox.fr



Vaccin prophylactique

- **Essai de phase III pour un vaccin nonavalent (6/11/16/18/31/33/45/52/58) développé par Merck**
 - 3 doses
 - Essais chez des garçons et filles de 9-15 ans et filles de 16-26 ans
- **Essais de réduction du nombre de doses** : accepté par le HCSP pour le Cervarix, probablement bientôt pour le Gardasil
- **Vaccination des garçons**
 - Mise en place dans certains pays (USA, Australie ...)
 - Efficacité du gardasil pour prévenir les verrues génitales et les lésions anales préneoplasiques
 - Bénéfice indirect pour les femmes en cas de couverture vaccinale faible
 - Efficacité dans la prévention des infections orales et des cancers de l'oropharynx ? des cancers péniens ?



FIN