

INFECTION A PAPILLOMAVIRUS DU COL DE L'UTERUS

**(1) enquête épidémiologique dans un
Centre de Santé de la Sécurité Sociale**

(2) expérience diagnostique au CHU de Poitiers

Gérard AGIUS

Laboratoire de Virologie

CHU de Poitiers

HPV : aspects virologiques

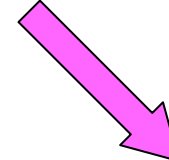
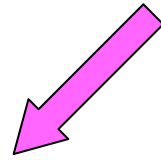
- Virus à ADN bicaténaire et circulaire, 8 kb, un seul brin codant, 55 nm, nus
- *Papillomaviridae, papillomavirus*
- Tropisme épithélial, épithélium malpighien +++
- Infections fréquentes de la peau et des muqueuses
- Implications de certains génotypes dans le développement de lésions pré-cancéreuses et de cancers épithéliaux



Cancer du col de l'utérus = cancer viro-induit

Les HPV à tropisme muqueux

40 génotypes



HPV à bas risque (BR)

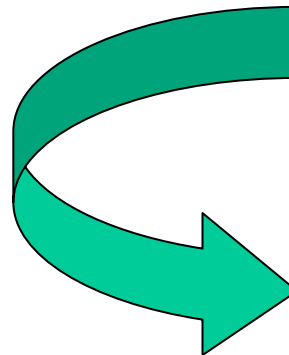
HPV à haut risque (HR)

Ex. : HPV 6, 11, 42, 43, 44 ...

**Ex. : HPV 16 +++
HPV 18, 31, 33, 35, 39, 45 ...**



Lésions bénignes
dysplasies de bas grade



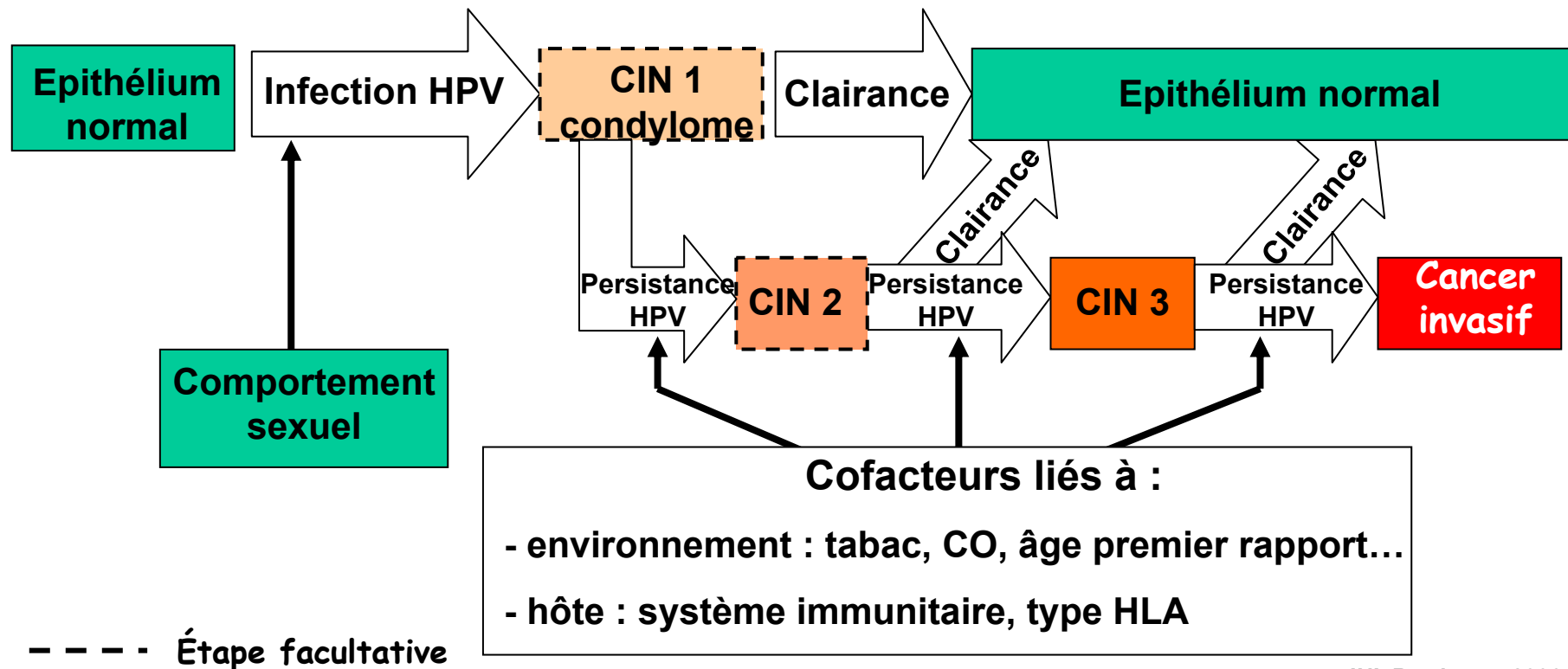
Lésions dysplasiques,
carcinome *in situ* et
cancers invasifs

Cancer du col de l'utérus

- **1^{ère} cause de décès par cancer chez la femme dans les pays en voie de développement**
- **10^{ème} cause de décès dans les pays développés**
- **En France (année 2000) :**
 - **8^{ème} rang des cancers féminins (3390 nouveaux cas)**
 - **5^{ème} rang en terme de mortalité (1160 décès)**
- **Dépistage : frottis cervico-vaginal tous les 3 ans**
- **Insuffisance de la couverture de la population française : 60 %** [Schaffer *et al*, 2000 ; Rousseau *et al*, 2002]

Histoire naturelle

Histoire naturelle de l'infection à HPV oncogènes, liée à l'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus





Enquête épidémiologique dans un Centre d'Examens de Santé de la Sécurité Sociale

J. Med. Virol., 2004, **73**:262-8.

JNI, Bordeaux, 2006

Introduction

- **Peu d'étude française sur la prévalence des génotypes dans la population générale**
- **Centres d'Examen de Santé (bilan proposé tous les 5 ans) :**
 - examen bucco-dentaire
 - biologie standard (sang, urine)
 - recherche de sang dans les selles (>50 ans)
 - frottis cervico-vaginal
 - audiométrie
 - acuité visuelle, tonométrie
 - spirométrie
 - ECG, examen clinique
 - synthèse

Objectifs

- **Evaluation de la prévalence de l'infection à HPV du col utérin au sein d'une population fréquentant le Centre d'Examens de Santé de la Sécurité Sociale de la Vienne**
- **Epidémiologie des génotypes circulants**
- **Corrélation avec les résultats cytologiques des frottis cervico-vaginaux**
- **Recherche de facteurs de risque associés**

Population étudiée

- **Recrutement sur une période de 2 ans**
- **Nombre de patientes : 657**
- **Age moyen \pm E.T.M. : 44,0 \pm 15,2 ans (18-77 ans)**
- **Inclusion :**
 - **consentement éclairé, femmes non vierges**
 - **pas de frottis ou bien frottis anormal dans les 3 ans précédents**
- **Examen gynécologique**
- **Questionnaire :**
 - **âge, profession, situation familiale (mariée, célibataire, divorcée, veuve)**
 - **tabac, contraception (DIU, préservatif, orale, autre)**
 - **nombre de grossesses, ménopause et T.H.S.**
 - **infections génitales antérieures (hautes, basses)**

Méthodes (1)

• Cytologie des cellules du col utérin : méthode conventionnelle

O.M.S.	Richart	Bethesda
Dysplasie légère	Condylome CIN I avec koïlocytose	Bas grade (L-SIL)
Dysplasie moyenne	CIN II avec ou sans koïlocytose	Haut grade (H-SIL)
Dysplasie sévère	CIN III avec ou sans koïlocytose	
Carcinome <i>in situ</i>		

Carcinome épidermoïde invasif

Méthodes (2)

- **ASC-US** (*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*) :
atypies des cellules malpighiennes de nature mal définie
- **ASC-H** (*Atypical Squamous Cells cannot exclude H-SIL*) :
atypies des cellules malpighiennes n'excluant pas une lésion de haut grade
- **AGC** (*Atypical Glandular Cells*) :
atypies des cellules glandulaires

Méthodes (3)

- **Détection des HPV sur produits de grattage du col de l'utérus par PCR (amorces consensus MY09/MY11)**
[Manos *et al*, 1989]
- **Génotypage :**
 - analyse des profils de restriction enzymatique des produits amplifiés après hydrolyse par *Hae*-III, *Pst*-I et *Rsa*-I [Lungu *et al*, 1992]
 - séquençage (Abi Prism 310)
 - clonage puis séquençage pour les infections mixtes
- **Analyse statistique : *Statview* (SAS Institute, USA)**

Prévalence de l'infection

- Prévalence globale : 7,3 % (48/657) dont 6 co-infections
- Prévalence des différents génotypes :

Haut risque : 35 (5,3 %)

- HPV 16 : 12 (22,2 %)

- HPV 58 : 7 (13,0 %)

- HPV 18 : 6 (11,1 %)

- HPV 33 : 5 (9,2 %)

- HPV 31 : 3 (5,5 %)

- HPV 39 : 1 (1,9 %)

- HPV 68 : 1 (1,9 %)

Bas risque : 16 (2,4 %)

- HPV 30 : 5 (9,2 %)

- HPV 53 : 3 (5,5 %)

- HPV 6 : 2 (3,7 %)

- HPV 70 : 2 (3,7 %)

- HPV 11 : 1 (1,9 %)

- HPV 61 : 1 (1,9 %)

- HPV 62 : 1 (1,9 %)

- HPV 69 : 1 (1,9 %)

HPV non typables : 3 (0,5 %)

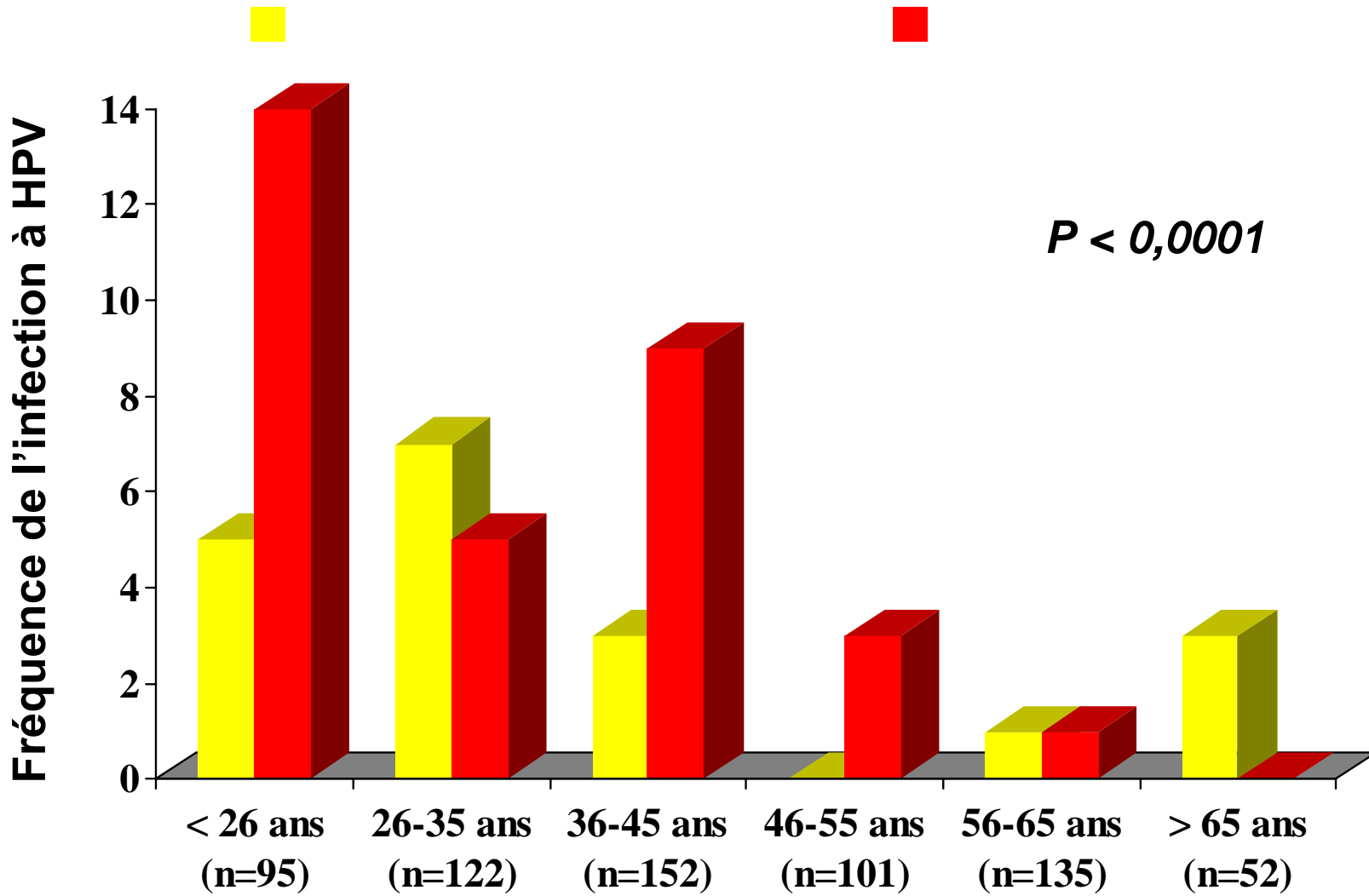
Résultats cytologiques

• Normal :	613 (93,3 %)	2222 (93,6 %)
• ASC-US :	8 (1,2 %)	34 (1,4 %)
• Bas grade :	34 (5,2 %)	87 (3,7 %)
• Haut grade :	2 (0,3 %)	30 (1,3 %)

[Cucherousset *et al.*, 2003]
(n=2373)

Prévalence des HPV oncogènes en fonction de la cytologie

<i>Patientes</i>	<i>Normal</i>	<i>ASC-US</i>	<i>Bas grade</i>	<i>Haut grade</i>	<i>Référence</i>
C.E.S. (n=657)	3,4%	25%	29,4%	100%	Beby-Defaux, 2004 (Poitiers)
CHU/ville (n=3832)	13,5%	33%	49,4%	85,7%	Boulanger, 2004 (Amiens)
CHU/ville (n=2373)	10,7%	55,9%	70,1%	100%	Cucherousset, 2003 (Reims)
CHU (n=596)	19,5%	52,9%	64,6%	81,6%	Riethmuller, 1999 (Besançon)



Infection à HPV en fonction de l'âge

Facteurs de risque (1)

Caractéristiques	Fréquence	HPV positif	HPV négatif	P
Age				<0,0001
<25 ans	88	16 (18,2%)	72 (81,8%)	
25-44 ans	262	24 (9,2%)	238 (90,8%)	
>45 ans	307	8 (2,6%)	299 (97,4%)	
Statut socio-économique				NS
Bas	550	40 (7,3%)	510 (92,7%)	
Moyen	101	6 (5,9%)	95 (94,1%)	
Elevé	6	2 (33,3%)	4 (66,7%)	
Statut marital				<0,0001
Mariée	429	13 (3,0%)	416 (97,0%)	
Non mariée	228	35 (15,3%)	193 (84,7%)	
Tabac				<0,0001
Oui	146	25 (17,1%)	121 (82,9%)	
Non	511	23 (4,5%)	488 (95,5%)	

NS : non significatif

Facteurs de risque (2)

Caractéristiques	Fréquence	HPV positif	HPV négatif	<i>P</i>
Contraception				0,0008
Oui	225	27 (12,0%)	198 (88,0%)	
Non	432	21 (4,9%)	411 (95,1%)	
Nombre de grossesse				0,0001
0	163	25 (15,3%)	138 (84,7%)	
1-3	375	18 (4,8%)	357 (95,2%)	
≥4	119	5 (4,2%)	114 (95,8%)	
Ménopause				0,0004
Oui	237	6 (2,5%)	231 (97,5%)	
Non	420	42 (10,0%)	378 (90,0%)	
T.H.S.				NS
Oui	14	0 (0%)	14 (100%)	
Non	643	48 (7,5%)	595 (92,5%)	
Antécédents d'I.S.T.				NS
Oui	163	14 (8,6%)	149 (91,4%)	
Non	494	34 (6,9%)	460 (93,1%)	

NS : non significatif

JNI, Bordeaux, 2006

Missions et intérêts des Centres d'Examens de Santé

- **Examens de santé périodiques pour les assurés sociaux :**
 - Suivi régulier possible
- **Campagne de dépistage national :**
 - Rattrapage des femmes n'ayant pas de frottis
- **Information et éducation de la santé :**
 - Femmes à faible niveau socio-économique
- **Programmes de recherche :**
 - Enquête épidémiologique possible



Expérience diagnostique au CHU de Poitiers

Objectifs

- **Implantation d'une technique de détection de l'ADN des HPV en routine en 2002**
- **Corrélation cytologie - virologie**
- **Intérêt des gynécologues pour ce nouveau paramètre virologique**
- **Indications**
- **Attitude par rapport aux recommandations officielles**

Population étudiée

- **Nombre de patientes : 477**
- **Age moyen \pm E.T.M. : 34,9 \pm 11,1 ans (16-70 ans)**
- **Nombre de prélèvements : 545**
 - 1 prélèvement pour 417 patientes
 - 2 prélèvements pour 46 patientes
 - 3 prélèvements pour 9 patientes
 - 4 prélèvements pour 1 patiente
 - 5 prélèvements pour 1 patiente
- **Délai moyen entre 2 prélèvements : 8,5 mois**

Méthodes

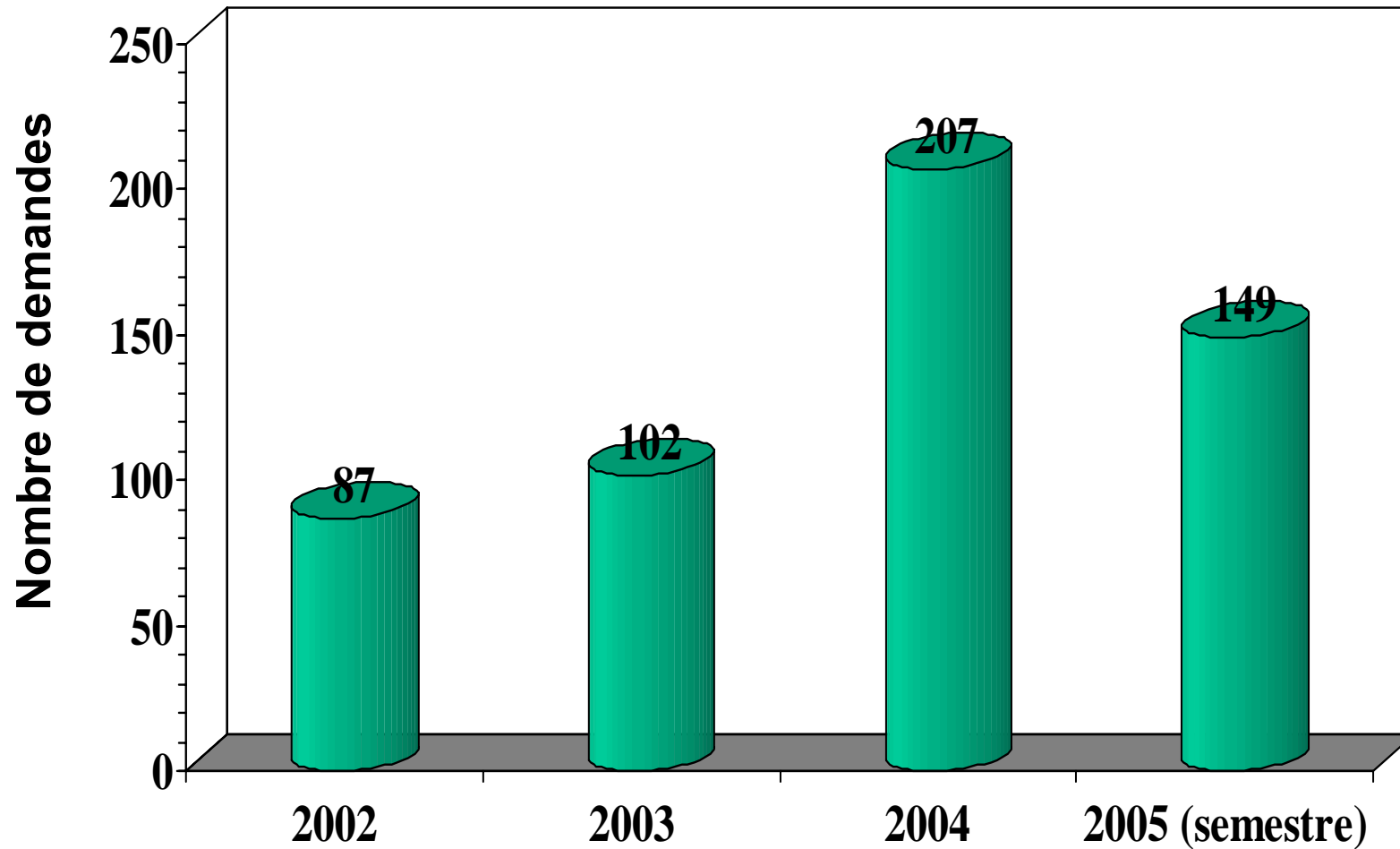
- Cytologie (technique conventionnelle) des cellules du col utérin
- Détection des HPV oncogènes sur produits de grattage du col utérin par captures d'hybrides (hc2, Digene)



Milieu de transport STM
(*Specimen Transport Medium*)

- **Génotypage effectué par séquençage**

Evolution des demandes



Recommandations ANAES

Actualisation 2002

- **Frottis ASC-US (dans 5 à 10 % des cas : CIN2, CIN3, exceptionnellement cancer invasif)**
 - soit colposcopie d'emblée
 - soit frottis de contrôle 6 mois plus tard
 - soit recherche d'HPV oncogènes
- **Frottis bas grade (virologie non recommandée en première intention) :**
 - option possible après 2 colposcopies non satisfaisantes

Nomenclature des actes de biologie médicale

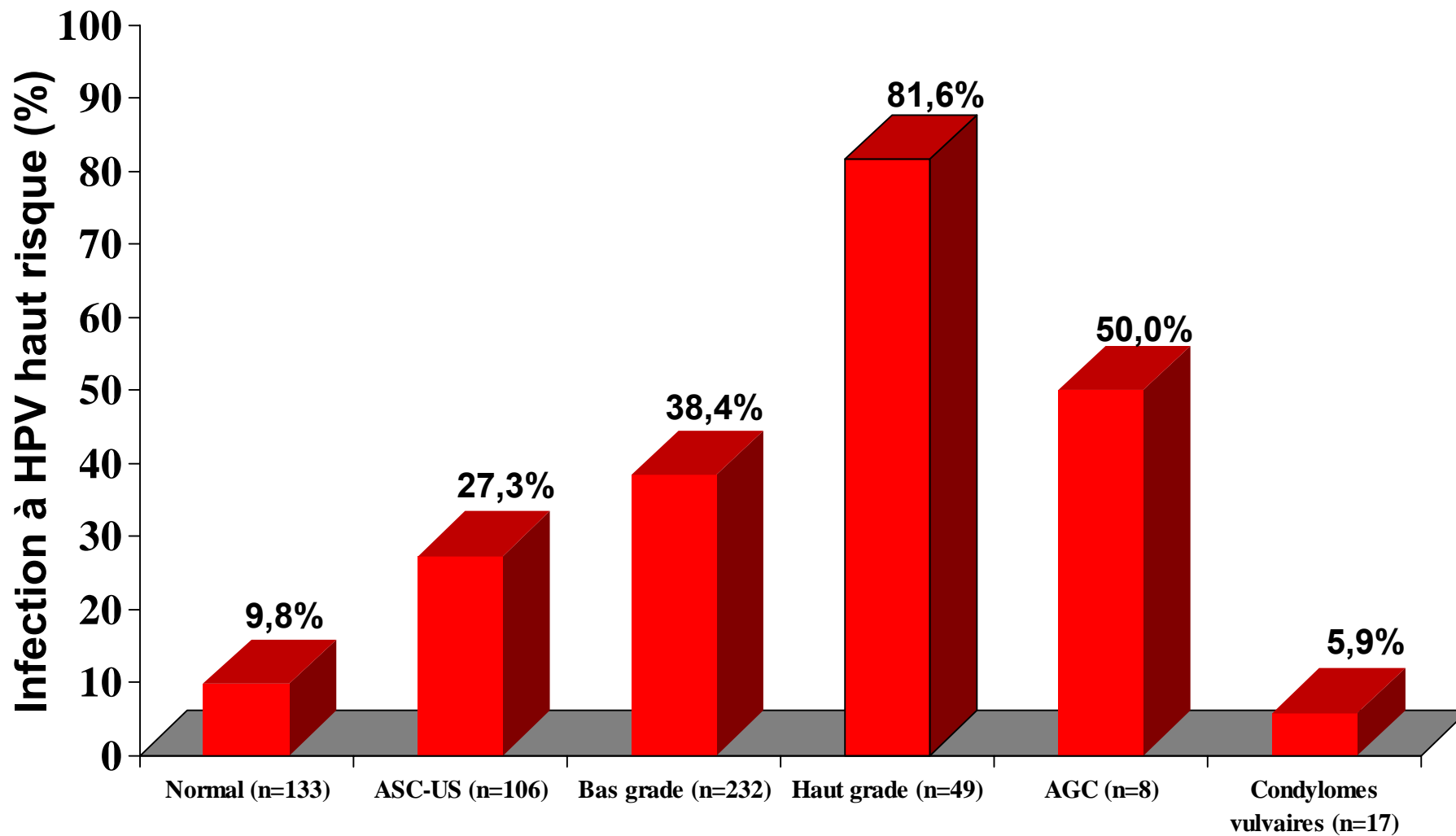
- **J.O. du 30.03.04 : arrêté du 19.03.04**
 - **Détection du génome des HPV oncogènes par hybridation moléculaire, avec ou sans amplification génique, sur cellules de frottis cervico-utérin**
 - **Une seule cotation par patient**
 - **Indication limitée aux frottis avec atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (ASC-US)**
- **Cotation : B 180 soit 48,6 Euros**

Fréquence de l'infection

- **Fréquence globale HPV haut risque : 32,3 % (176/545)**
- **Fréquence des différents génotypes haut risque :**
 - HPV 16 : 72 (40,9 %)
 - HPV 31 : 20 (11,4 %)
 - HPV 18 : 14 (7,9 %)
 - HPV 58 : 12 (6,8 %)
 - HPV 33 : 8 (4,5 %)
 - HPV 56 : 7 (3,9 %)
 - HPV 51 : 6 (3,4 %)
 - HPV 52 : 6 (3,4 %)
 - HPV 45 : 2 (1,1 %)
 - HPV 68 : 2 (1,1 %)
 - HPV 35 : 1 (0,5 %)
 - HPV 39 : 1 (0,5 %)
 - HPV 59 : 1 (0,5 %)
 - HPV non typables : 24 (13,6 %)

Cytologie et indications de l'examen virologique

- **Recommandées (ANAES) : 19,4 %**
 - frottis ASC-US : 106 (19,4 %)
- **Non recommandées (ANAES) : 38,0 %**
 - frottis normaux : 133 (24,4 %)
 - frottis haut grade : 49 (9,0 %)
 - condylomes vulvaires : 17 (3,1 %)
 - frottis AGC : 8 (1,5 %)
- **Frottis bas grade : 42,6 %**

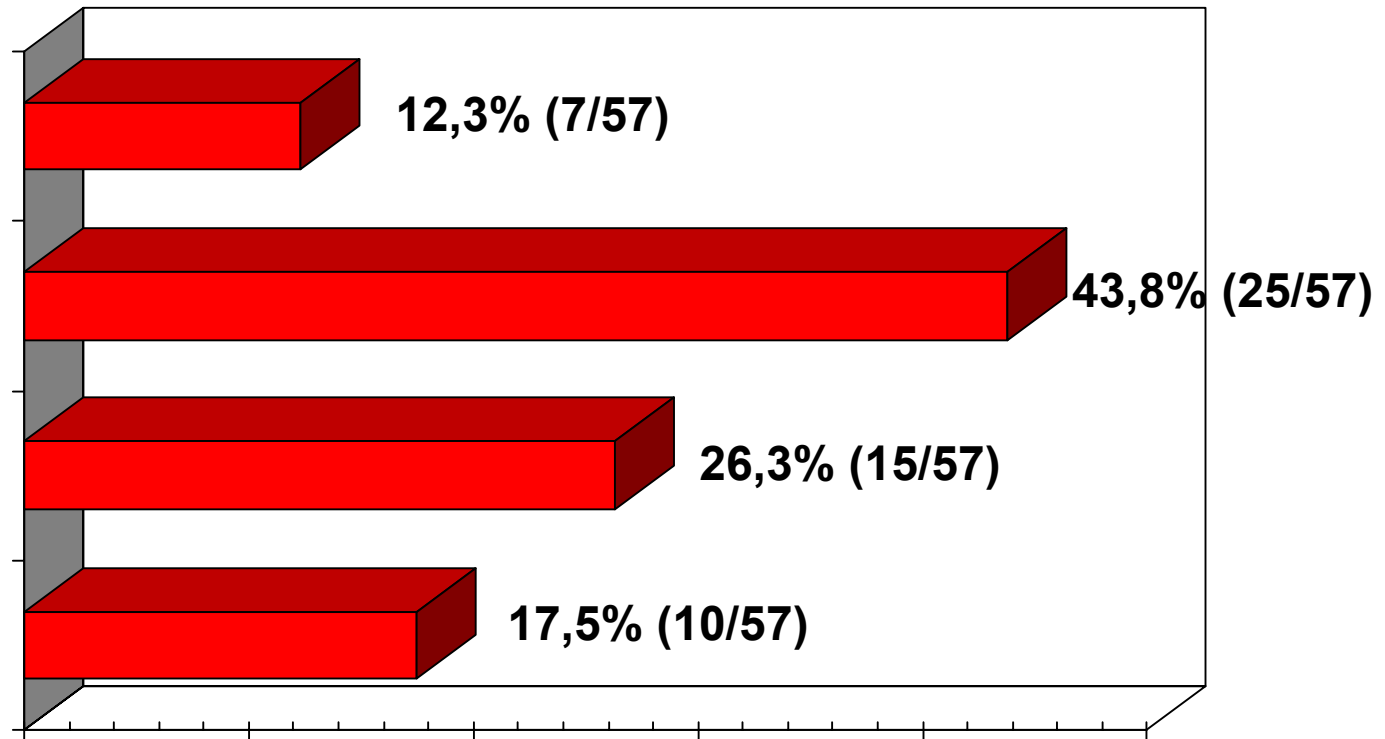


Infection à HPV haut risque en fonction de la cytologie

Fréquence (%) des HPV HR en fonction de la cytologie

<i>Patientes (N)</i>	<i>Normale</i>	<i>ASC-US</i>	<i>Bas grade</i>	<i>Haut grade</i>	<i>Etude</i>
545	13 (9,8%)	29 (27,3%)	89 (38,4%)	40 (81,6%)	Poitiers
3832	491 (13,5%)	30 (33,0%)	43 (49,4%)	13 (85,7%)	Boulanger, 2004
3165	370 (13,8%)	30 (53,6%)	162 (70,4%)	174 (91,6%)	Dalstein, 2004

- **Enquêtes épidémiologiques**
- **Techniques cytologiques différentes**
- **Relecture de la cytologie en fonction de l'histologie**



Pourcentage

Cytologie initiale des 57 patientes avec suivi virologique (HPV haut risque)

Indications

- **Haut grade :**
 - suivi post-thérapeutique (post-conisation...)
- **ASC-US et bas grade :**
 - caractère persistant ou transitoire de l'infection ?
- **Normal :**
 - patientes à risque
 - VIH
 - transplantation
 - immunodépression...

Génotypes impliqués

- **Infections persistantes : 12 cas (21,1%)**
 - HPV-16 : 7
 - HPV-18 : 3
 - HPV-51 : 1
 - HPV-52 : 1
- **Infections transitoires : 21 cas (36,8%)**
 - principalement HPV-16
- **Absence d'infection : 24 cas (42,1%)**

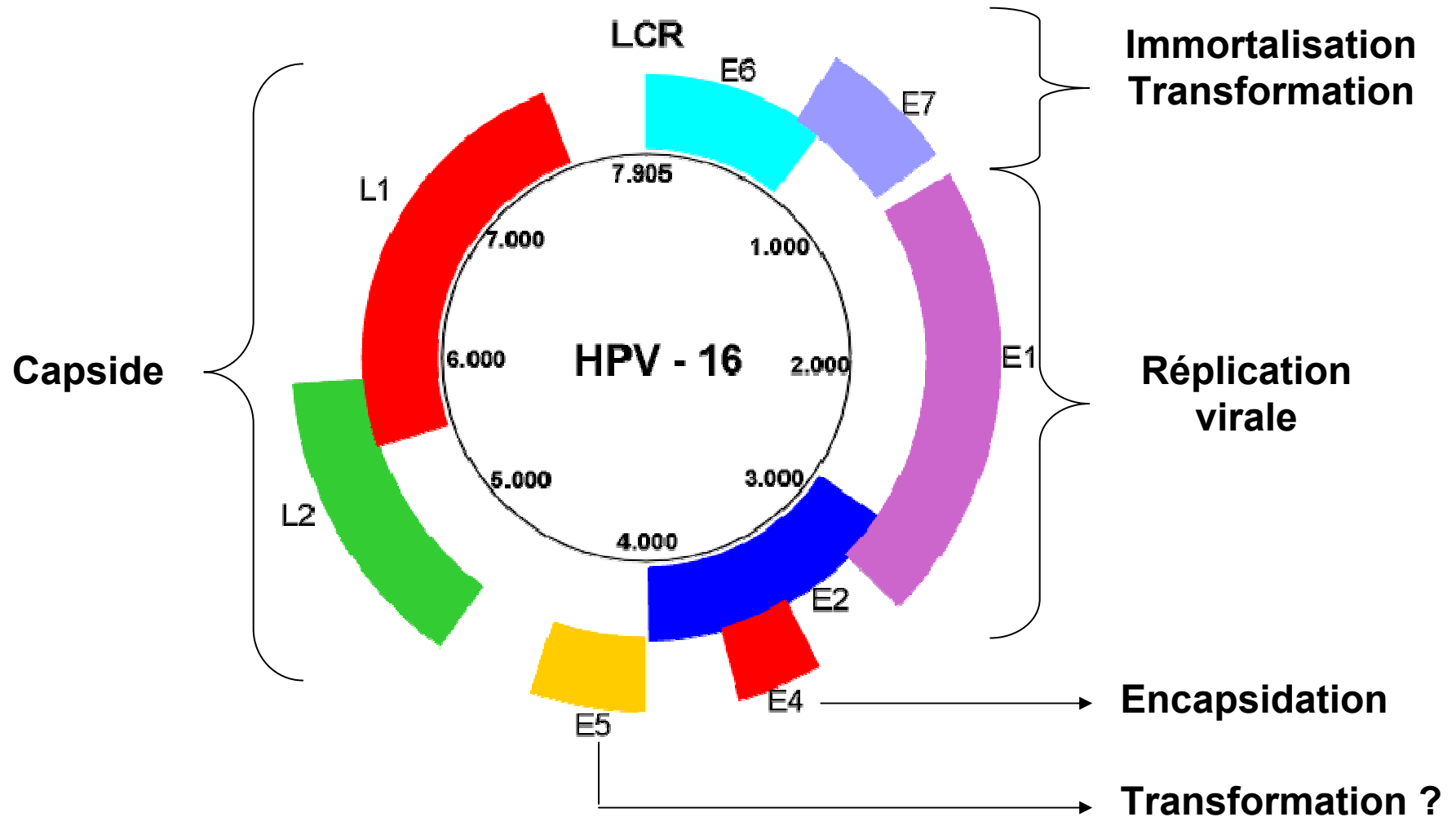
Cytologie initiale

	Persistence (n=12)	Transitoire (n=21)	Absence (n=24)
Normale	0	3	7
ASC-US	4	4	7
Bas grade	7	10	8
Haut grade	1	4	2

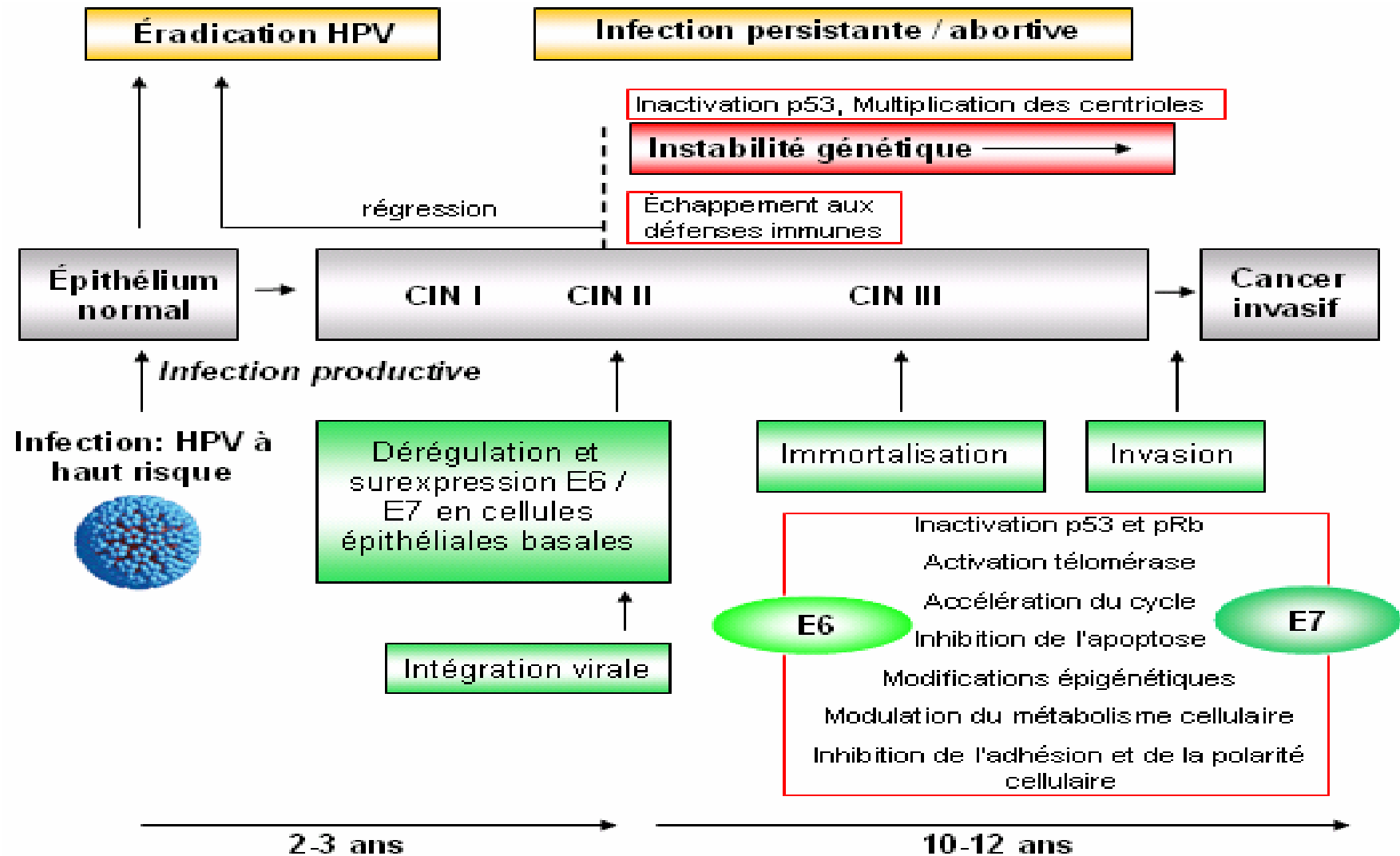
Conclusions

- **Manque d'intérêt initial suivi d'une augmentation progressive des demandes**
- **Indications de la prescription souvent mal adaptées**
- **Prescription d'une recherche d'HPV haut risque en accord avec les recommandations de l'ANAES : 19,4 %**
- **Manque d'information**
- **Quelle place doit-on donner à la virologie ?**
 - **extension des indications de l'ANAES**
 - **expérience d'autres pays**
 - **nécessité d'implanter en routine d'autres outils diagnostiques**
 - **arrivée de la vaccination**

Génome

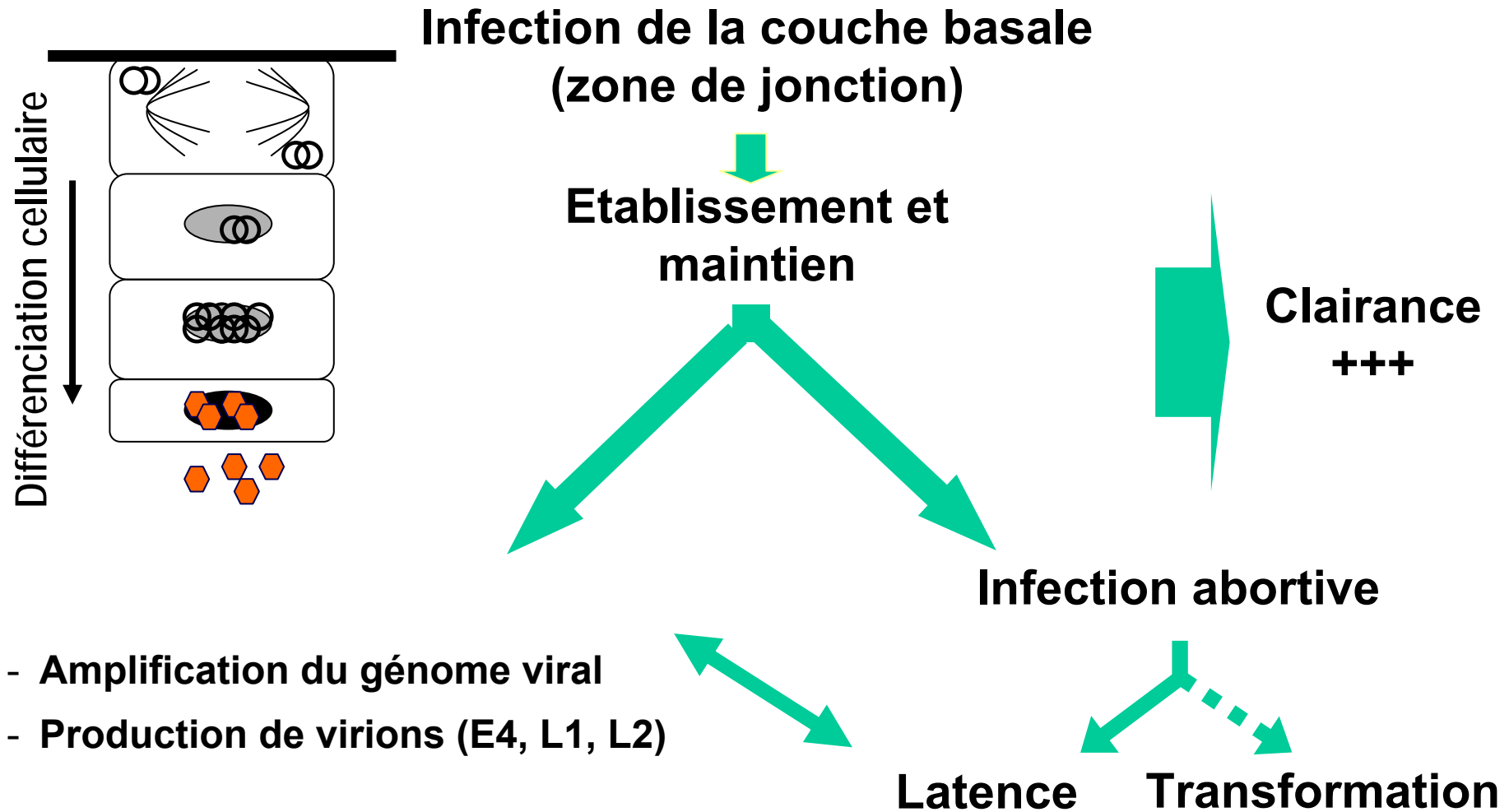


Physiopathologie

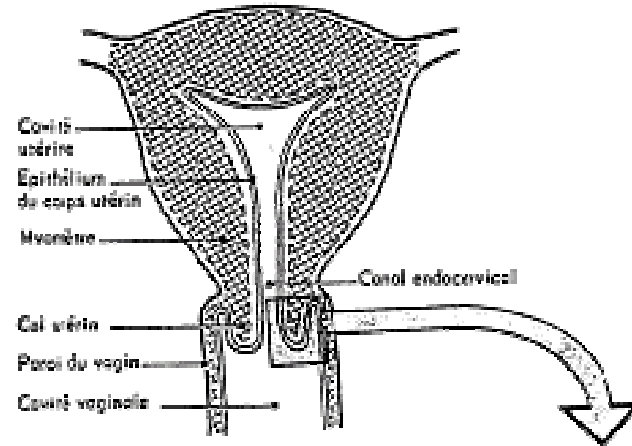


Le cycle viral

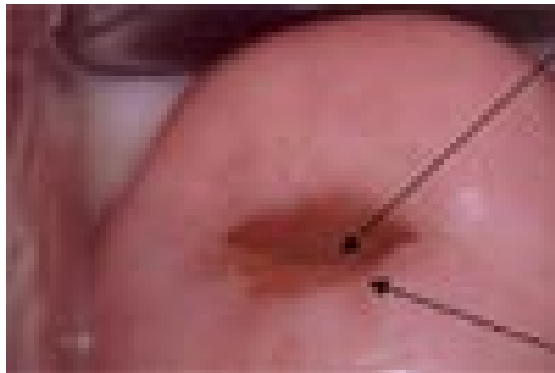
- **Spécificité tissulaire non lié au récepteur : spécificité transcriptionnelle**
- **Cycle viral étroitement lié à différenciation de la cellule épithéliale +++**



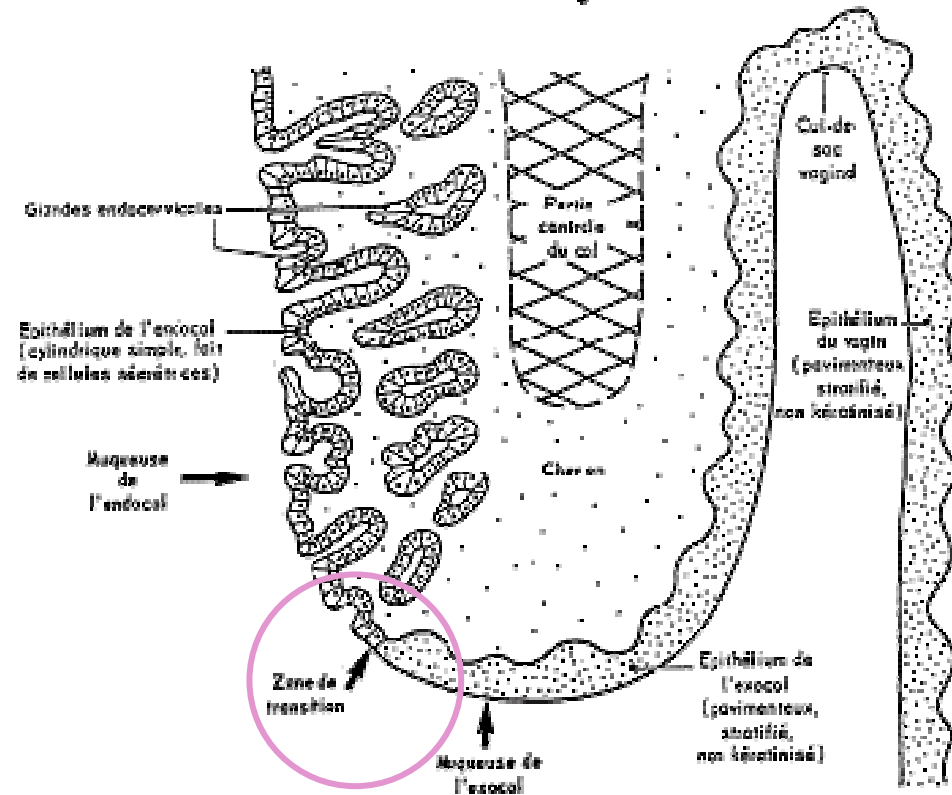
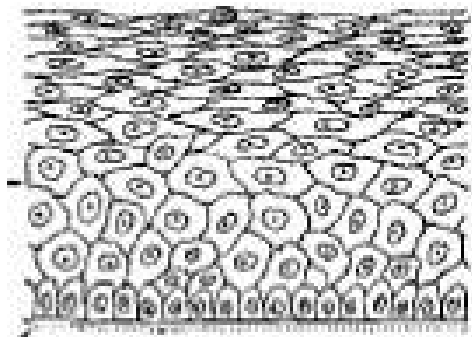
Le col utérin



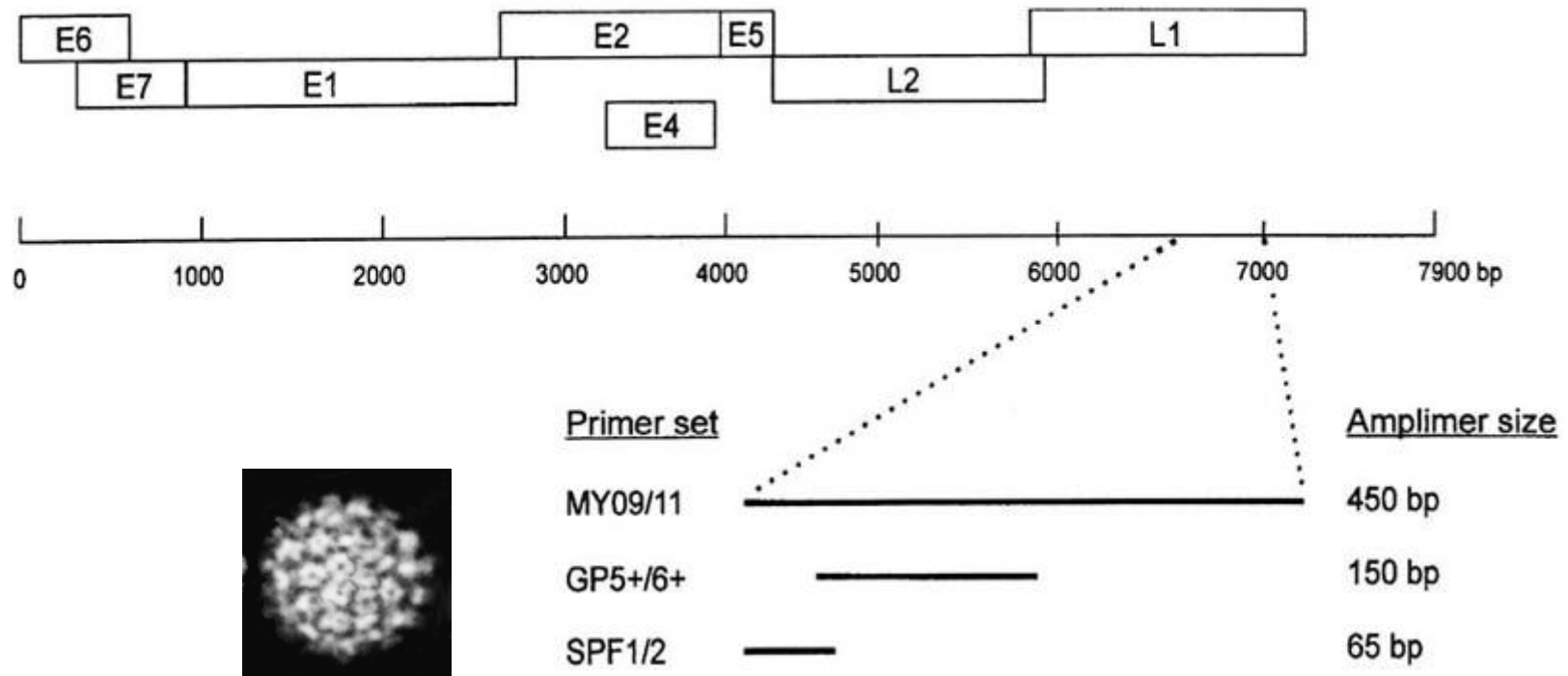
**Endocol =
épithélium
unistratifié**



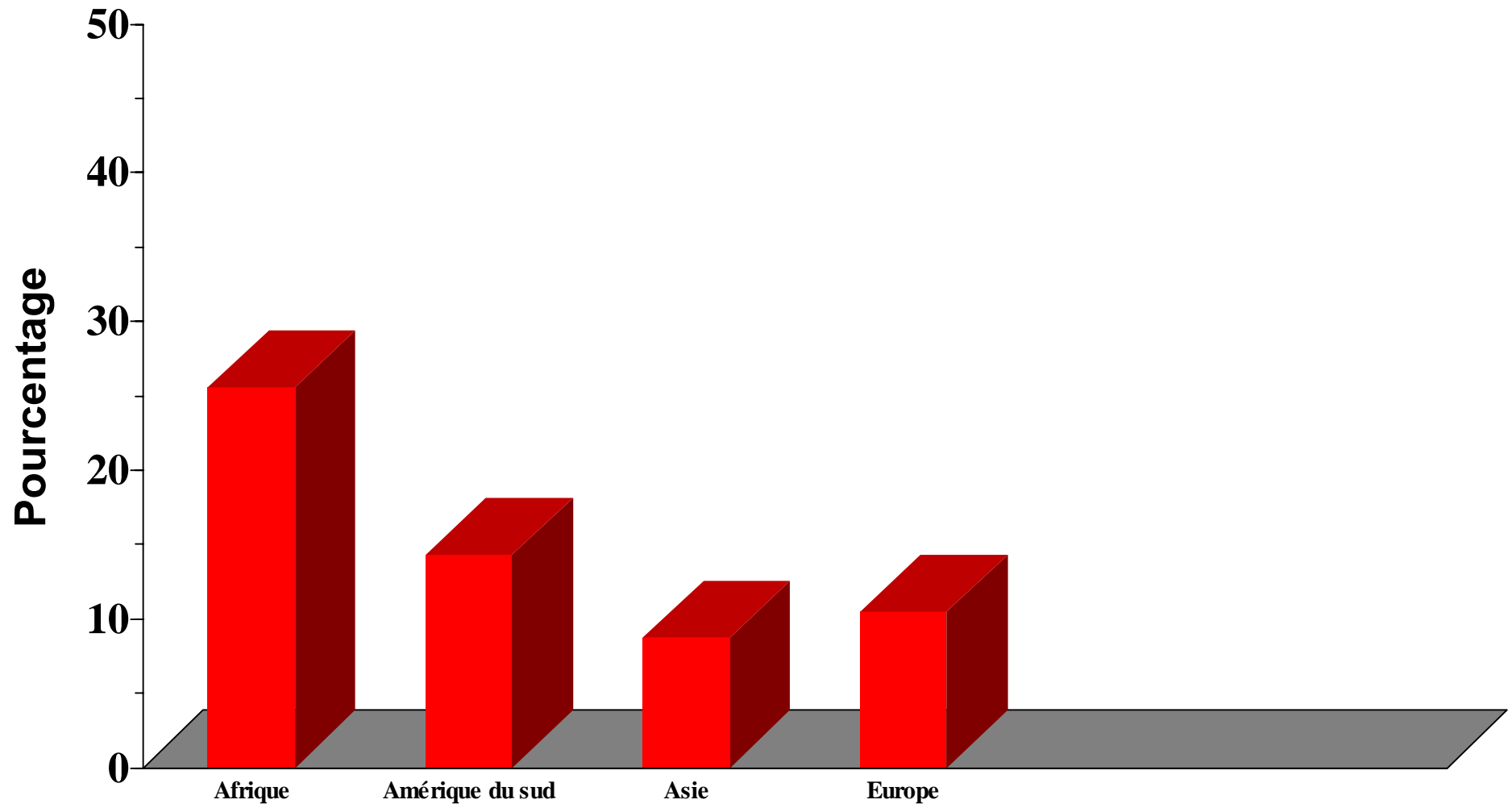
**Exocol =
épithélium
malpighien**



Choix des amorces consensus

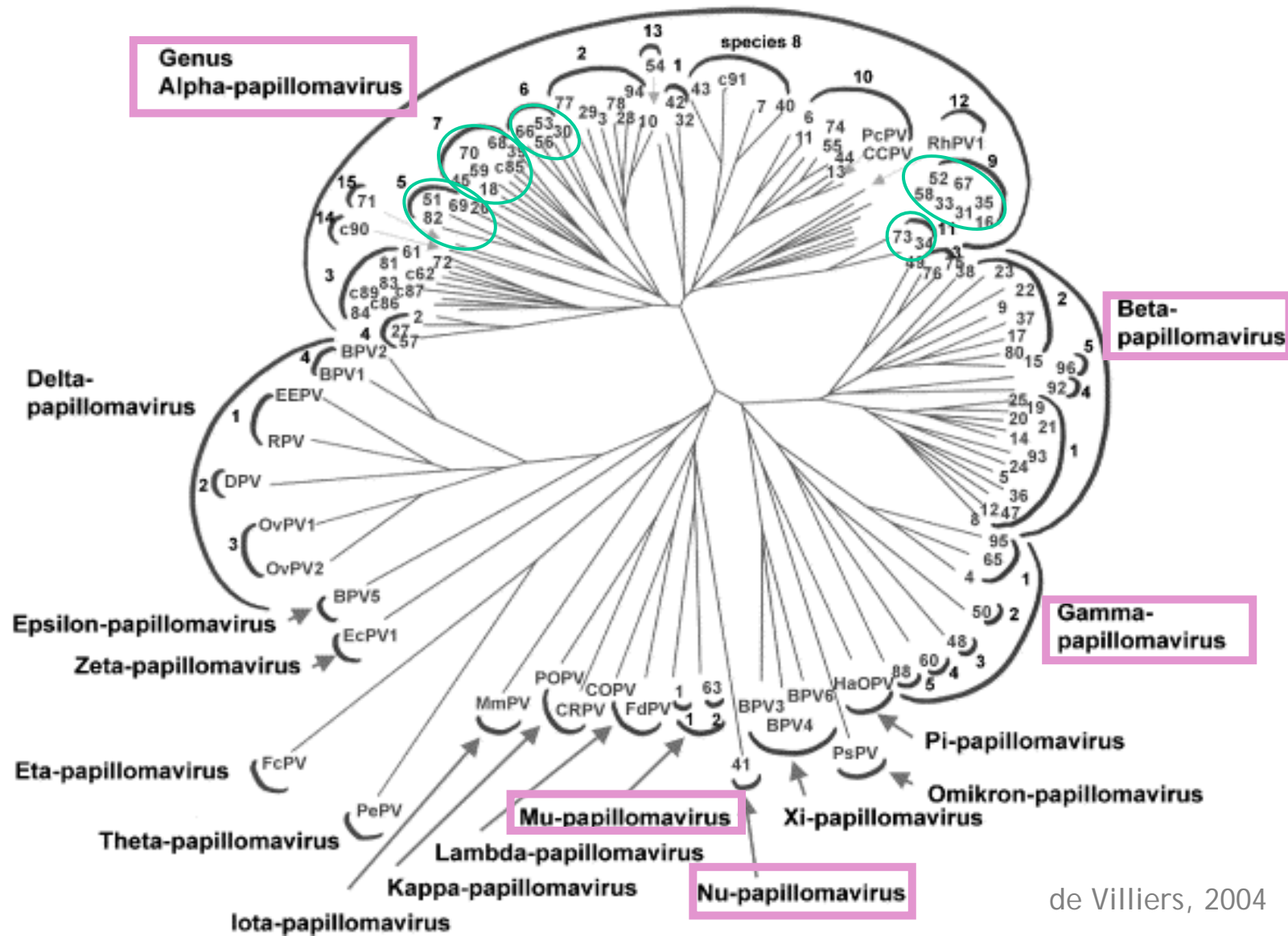


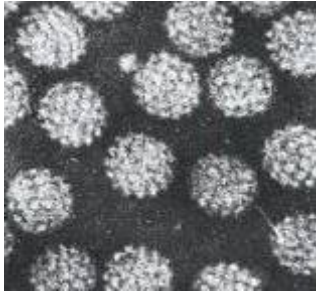
Représentation schématique des différentes localisations des principales amorces consensus sur le génome d'HPV



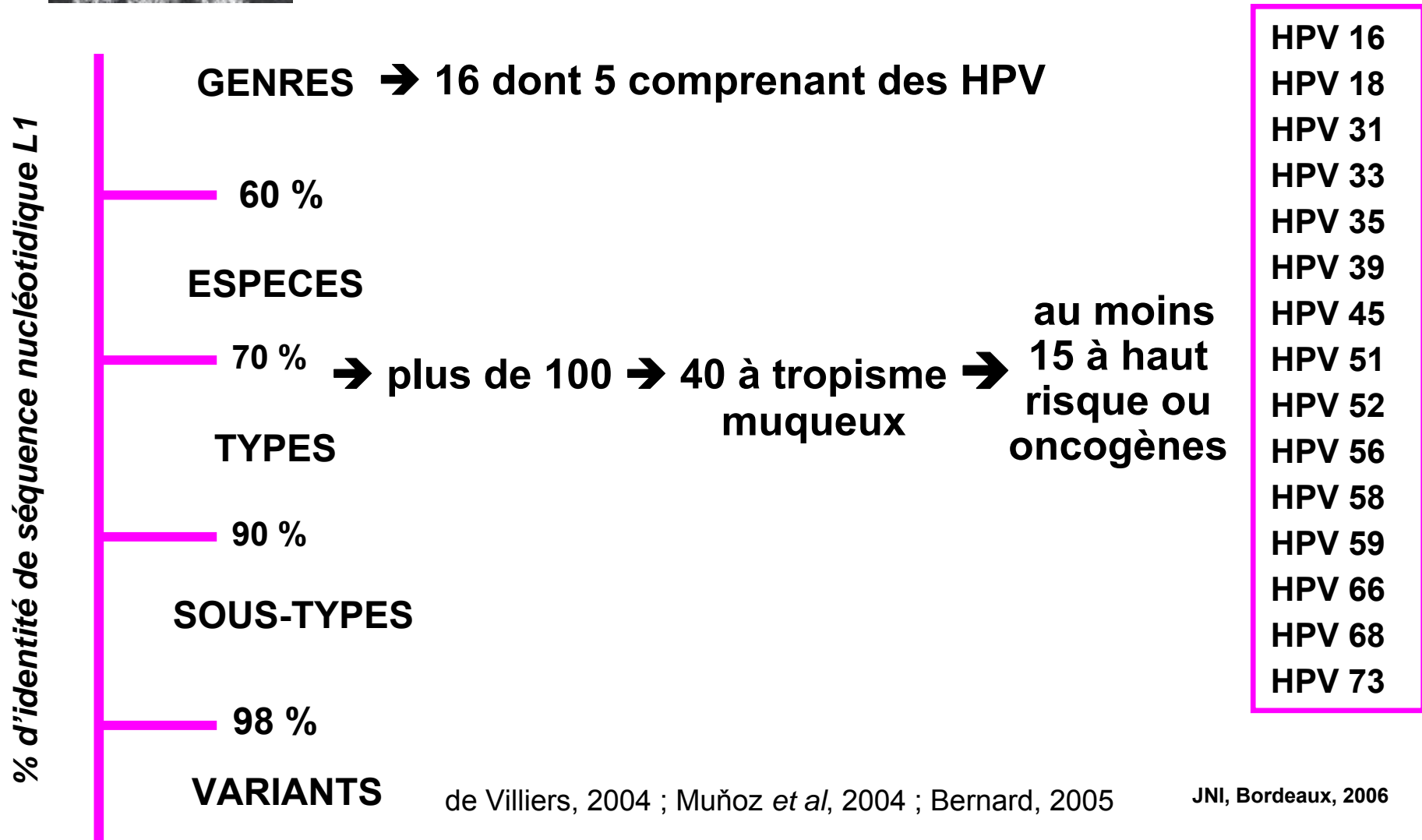
Prévalence de l'infection à HPV

HPV : arbre phylogénétique





HPV : classification



- **Prévalence des HPV oncogènes corrélée à la gravité de la cytologie**
- **Facteurs de risque influant sur la prévalence :**
 - **âge**
 - **tabac** [Kjellberg *et al*, 2000]
 - **parité** [Wright *et al*, 2000 ; Hildesheim *et al*, 2001],
 - **contraception : oui** [Sellors *et al*, 2000] , **non** [Elfgren *et al*, 2000]
 - **niveau de développement : variable en fonction des pays** [Womack *et al*, 2000 ; Wright *et al*, 2000]

Caractère persistant ou transitoire

- **Infection persistante :**
 - pas de définition consensuelle
 - **2 prélèvements positifs à un an d'intervalle** [Einstein & Burk, 2001]
 - nombreux facteurs favorisant la persistance
 - génotype haut risque, charge virale élevée
 - sévérité des lésions associées
 - contraception hormonale, tabac
 - facteurs liés à l'hôte : génétique (immunité, CMH...) ou acquis (HIV, transplantation)
- **Infection le plus souvent transitoire :**
 - clairance virale importante (70% à un an, >90% à 3 ans)
 - plus précoce pour les HPV BR que pour les HPV HR
 - moins probable quand dysplasie associée est sévère
 - associée à disparition des anomalies cytologiques

Ho *et al*, 1998 ; Franco *et al*, 1999 ; Elfgren *et al*, 2000 ; Nobbenhuis *et al*, 2001 ; Giulano *et al*, 2002 ; Van Duin *et al*, 2002

Prévalence de l'infection (2)

- **Grande variabilité : 2 à 44 %**
- **Technique :**
 - qualité du prélèvement
 - amorçage (PCR)
 - hybridation moléculaire
- **Génotype recherché**
- **Zone géographique :**
 - **Afrique : 25,6%**
 - **Amérique du sud : 14,3 %**
 - **Europe : 10,5 %**
 - **Asie : 8,7 %**
- **Population étudiée**
- **Incidence et mortalité du cancer du col de l'utérus**

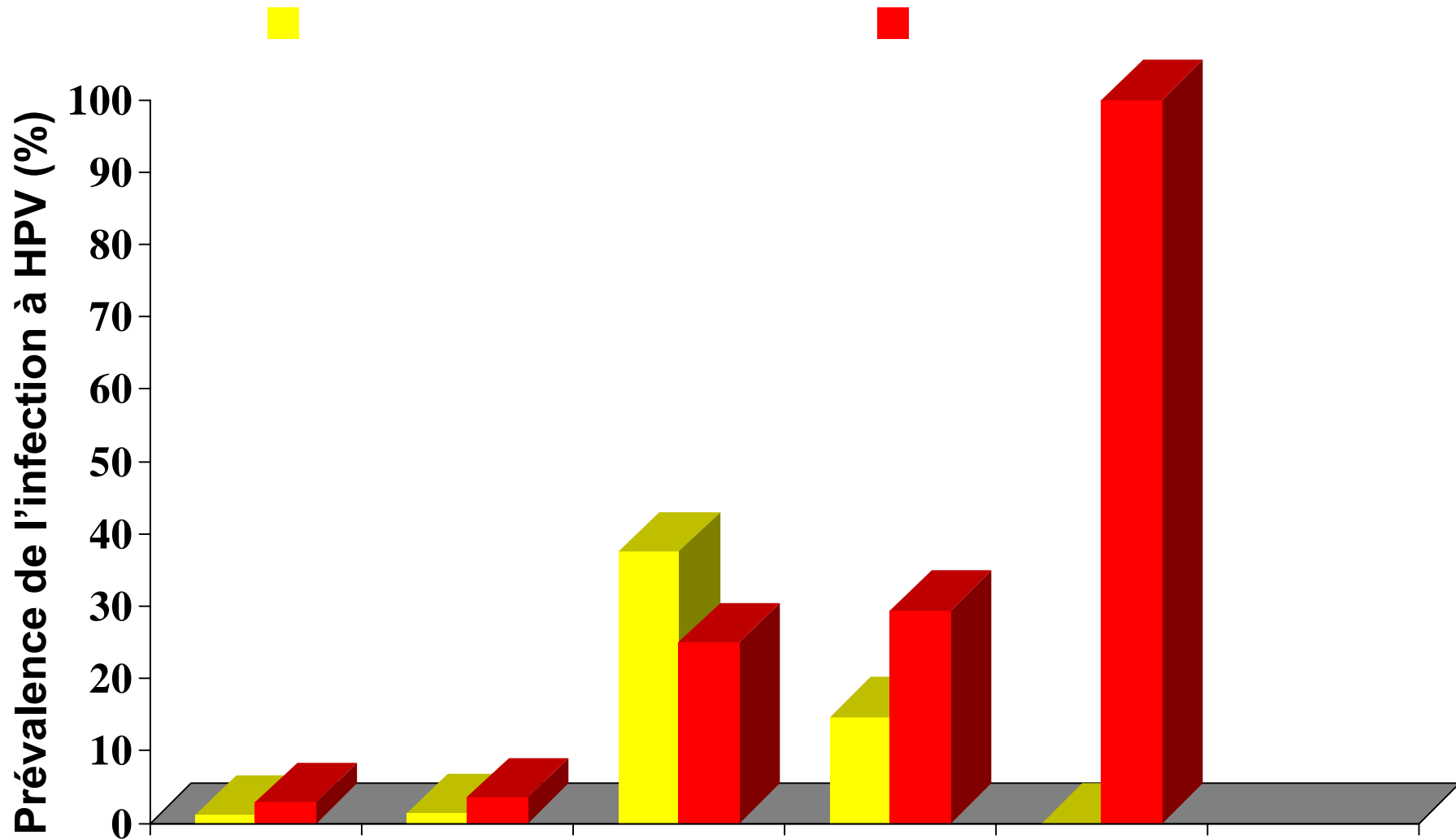
[Schneider *et al*, 2000 ; Shin *et al*, 2003 ; Boulanger *et al*, 2004 ; Reithmuller *et al*, 1999]

Conclusions

- **Prévalence HPV faible (globale : 7,3%, HR : 5,3%)**
- **Facteurs influençant la prévalence : âge (17-25 ans : 22,1% pour HR, 14,7% pour BR), tabac, parité, contraception**
- **Missions des Centres d'Examens de Santé :**
 - examens de santé périodiques pour les assurés sociaux
 - campagne de dépistage national
 - information et éducation de la santé
 - programmes de recherche épidémiologiques
- **Intérêt des Centres d'Examens de Santé :**
 - suivi régulier possible
 - rattrapage des femmes n'ayant pas de frottis
 - femmes à faible niveau socio-économique
 - enquête épidémiologique (génotypes, variants ...)

Collaborations

- *Virologie :*
 - Dr Agius
 - Dr Beby-Defaux
 - Dr Plouzeau
 - MF Hunault
- *Anatomie et Cytologie pathologiques :*
 - Dr Battandier
 - Dr Renaud
- *Biostatistiques :*
 - Dr Ragot
- *Centre d'Examens de Santé de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie de la Vienne :*
 - Dr Alix
 - Dr Brigeon
 - Dr Coste
 - Dr Dagnère
 - Dr Gautier
 - Dr Idier
 - Dr Lemasson
 - Dr Montier
 - Dr Puechlong



Prévalence de l'infection à HPV en fonction de la cytologie