

PAPILLOMAVIRUS

DEFINITION

Les Papillomavirus (HPV : *human papillomavirus*) appartiennent à la famille des papillomaviridae, agents responsables de lésions cutanéomuqueuses chez l'homme mais aussi chez de nombreuses espèces animales. Plus de 100 types d'HPV humains ont été identifiés ou partiellement caractérisés. Si la plupart des HPV sont responsables d'affections cutanées bénignes, de nombreux travaux ont démontré le rôle majeur de certains types d'HPV (HPV à haut risque) dans la genèse du cancer du col de l'utérus. Le potentiel oncogène des HPV à haut risque est étroitement lié à leur capacité d'intégrer leur génome au sein du génome cellulaire. La délétion des gènes viraux E2 et/ou E1 consécutive à l'intégration du génome viral conduit à la sur-expression des protéines virales E6 et E7. Ces protéines virales, en interférant avec des protéines cellulaires impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire, sont en partie responsables de la transformation cellulaire et de l'évolution maligne.

Les virus HPV à haut risque sont retrouvés dans plus de 99 % des cas de cancer invasif du col, mais aussi dans un grand nombre de cancers de la vulve, de l'anus, de la verge...

Le cancer du col représente la deuxième cause de cancer par ordre de fréquence chez les femmes dans le monde. En 2000, le cancer du col de l'utérus atteignait plus de 33 000 femmes en Europe, dont plus de 1 200 femmes jeunes (15-44 ans) en France. En dépit du dépistage par le frottis cervico-vaginal, il s'agit du deuxième cancer des femmes dans cette tranche d'âge en France. Le dépistage ne touche que 50 à 60 % de la population française, et, chaque année, 30 000 femmes sont prises en charge pour des lésions histologiques CIN 1, 2 ou 3.

L'infection virale par HPV est de transmission essentiellement sexuelle. Cependant, une transmission par inoculation à partir des verrues cutanées, par l'eau souillée (piscine, bain) et une transmission materno-fœtale sont possibles. S'il est admis que l'HPV est l'agent étiologique du cancer du col de l'utérus, des cofacteurs semblent intervenir (l'âge précoce des premiers rapports sexuels, la multiplicité des partenaires, l'immunodépression, les antécédents d'infection transmissible sexuellement, les conditions socio-économiques, l'absence d'un dépistage de dysplasies par examen d'un frottis et le tabagisme).

Synonymes : HPV : *Human Papilloma Virus* – famille : *papillomaviridae*, genre : *papillomavirus*.

CLINIQUE

Les HPV ont un tropisme spécifique pour les épithéliums cutanés et muqueux. Certains types d'HPV sont associés préférentiellement à des **lésions cutanées** (papillome ou verrue). Ainsi, les HPV de type 1, 2, 3, 4 sont fréquemment retrouvés dans les verrues plantaires, les verrues vulgaires ou les verrues planes. L'épidermodysplasie verruciforme est une affection cutanée rare, observée chez des individus prédisposés à cette affection liée à l'HPV de type 5 (susceptibilité immunogénétique). D'autres HPV sont associés à des **lésions touchant les muqueuses** de la sphère anogénitale et oropharyngée (condylomes génitaux ou laryngés). Au moins 23 types d'HPV sont retrouvés spécifiquement au niveau du tractus génital masculin ou féminin. Parmi eux, il est possible de distinguer 2 groupes selon leur potentiel oncogène, un groupe à haut risque ou risque intermédiaire (types 16, 18, 31, 33, 39, 45, 52, 58 et 69) et un groupe à bas risque (types 6, 11, 42, 43, 44, 53).

Dans la grande majorité des cas, l'infection à HPV est de nature bénigne. Selon les études épidémiologiques, la prévalence de l'infection à HPV varie de 5 à 50 % avec un pic vers l'âge de 25 ans, puis on observe une diminution progressive après l'âge de 30 ans. Le portage viral est transitoire (durée médiane de 6 à 25 mois) et dans 70 à 80 % des cas, l'établissement d'une immunité conduit à l'élimination du virus associée à une régression des lésions éventuellement présentes.

La persistance d'une infection à HPV au-delà de 25 mois, doit être considérée comme anormalement longue et faire l'objet d'une surveillance. En effet, le virus n'étant pas éliminé, les effets délétères de l'intégration dans le génome peuvent entraîner l'apparition puis l'aggravation de lésions intra-épithéliales et finalement, l'apparition d'un cancer (*figure 1*). Selon les études, l'ADN HPV est retrouvé présent sur 20 à 65 % des frottis de type ASC-US (*atypical squamous cells of undetermined significance*), dans 45 % à 80 % des frottis de lésions épithéliales de bas grade (L-SIL) et dans 65-90 % des lésions de haut grade (H-SIL). La prévalence du HPV est de 30 % à 95 % pour les lésions histologiquement classées CIN-1 (bas grade), de 33 à 98 % dans les CIN-2 et de 45 à 98 % dans les CIN-3 (haut grade). Le délai de portage minimal pour observer l'apparition d'un cancer du col est compris selon les études entre 8 et 20 ans.

INDICATION DE LA RECHERCHE

- Dans le cadre du dépistage du cancer du col utérin : suspicion d'une infection à HPV sur le résultat cytologique anormal du frottis - triage des anomalies cytologiques de type ASC-US. Il est à noter que le remboursement du test de détection et typage des HPV entré en vigueur en février 2004, s'applique

exclusivement dans le cadre des frottis équivoques de signification indéterminée (ASC-US). En dehors d'un contexte de frottis ASC-US, le test n'est pas remboursé.

- Suivi des lésions précancéreuses CIN2 et 3 traitées.
- Suspicion clinique d'une infection à HPV (présence de verrues ou condylomes).

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION – TRANSPORT

Test HPV (recherche d'HPV à haut risque) : chez la femme, le prélèvement est réalisé à l'aide d'une cytobrosse par écouvillonnage à la jonction endo-exocol ; chez l'homme ou l'enfant, par grattage des lésions. Sont aussi utilisées, des pièces biopsiques fraîchement collectées (condylomes, verrues).

Génotypage HPV : prélèvements cutanéomuqueux, génitaux et biopsies (condylomes, verrues).

Suite à un frottis en couche mince, la recherche et le typage des HPV est réalisable à partir du milieu liquide ayant servi au frottis, mais seuls certains milieux liquides sont validés pour la recherche d'HPV par des méthodes moléculaires.

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions précises de prélèvement et conservation-transport.

METHODES DE DETECTION ET TYPAGE DES PAPILLOMAVIRUS

A ce jour, il n'existe pas de système de culture simple, ni d'examen sérologique pour affirmer le diagnostic d'une affection virale à HPV. Bien que le développement d'une réponse immunitaire spécifique à HPV (immunité cellulaire et humorale) joue un rôle important dans l'élimination du virus, les mécanismes mis en jeu restent encore incomplètement élucidés. Si des méthodes de sérodiagnostic existent (détection d'IgG et d'IgA contre l'HPV), elles ne sont pas utilisées en raison d'une réponse immunologique inconstante. Le diagnostic direct des infections à HPV repose donc sur la détection du génome viral par des méthodes de biologie moléculaire.

■ Méthodes fondées sur une hybridation simple

Au début des années quatre-vingt, les premiers tests commercialisés pour la détection du génome viral des HPV étaient fondés sur la méthode du Southern-Blot et nécessitaient l'emploi de sondes oligonucléotidiques radio-marquées au phosphore 32 (³²P). Des variantes furent développées afin de simplifier les procédures opératoires dans le cadre d'une utilisation clinique (Dot-Blot et FISH : *fluorescent in situ hybridisation*) ou permettre une recherche directe sur des préparations de tissus fixés sur lames (ISH : *in situ hybridation*). Ces

premières méthodes de diagnostic, par manque de sensibilité (Dot-Blot), de spécificité (ISH) ou non automatisables (Southern), ne permettaient pas une utilisation en routine.

■ Méthode fondée sur une hybridation en milieu homogène avec amplification d'un signal

La mise en évidence et le typage des HPV sont actuellement le plus souvent réalisés en routine à l'aide d'une trousse commerciale (test *Hybrid Capture II*) fondée sur l'hybridation de sondes ARN en milieu homogène liquide, suivie de l'amplification du signal de révélation par chimioluminescence. Ce test semi-automatisé a fait l'objet de nombreuses évaluations. Il permet de détecter la présence de 5 types d'HPV appartenant au groupe à bas risque (6, 11, 42, 43, 44) et 13 types d'HPV appartenant au groupe à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). La sensibilité de la détection est évaluée entre 1 et 5 pg/ml d'ADN soit environ 120 000 à 600 000 équivalents-génome par ml de prélèvement. La technique ne permet pas un typage viral précis ; elle est utilisable sur prélèvements cervicaux féminins et sur prélèvements anaux des deux sexes.

■ Méthodes fondées sur une amplification génique

Différentes méthodes de détection des HPV par amplification génique (PCR : *polymerase chain reaction*) ont été publiées. Ces méthodes utilisent des amorces consensus ou génériques (amorces MY09/MY11, GP5/GP6, GP5 +/GP6 +, SPF, PGMV) spécifiques de régions génomiques conservées parmi les HPV. Si la méthode de PCR de type «consensus» permet d'amplifier un grand nombre de génotypes d'HPV, une étape supplémentaire pour le génotypage est nécessaire. Selon le couple d'amorces utilisé, la sensibilité de détection varie vis-à-vis de certains génotypes. Des tests de détection et de typage des HPV par PCR sont commercialisés sous un format de type microplaque ou de type bandelette (hybridation inverse sur bandelette ou *line probe assay*). Enfin, le typage des HPV peut-être réalisé consécutivement à une PCR par les méthodes de séquençage ou de pyroséquençage ou par analyse du produit d'amplification par hybridation sur des puces à ADN ou *Microarrays*, ou encore par PCR en temps réel.

TRAITEMENT

Le traitement des lésions dues à HPV peut être entrepris par cryothérapie, par vaporisation au laser, par l'électrocoagulation, par résection chirurgicale (conisation) et par l'application locale d'acide trichloracétique, de podophylline, de podophyllotoxine ou d'immunostimulants tels que l'interféron et l'imiquimod (Aldara®).

CONDUITE A TENIR DANS LE CADRE DU DEPISTAGE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus repose sur la réalisation d'un frottis cervicovaginal conventionnel ou en milieu liquide à un rythme triennal (après 2 frottis normaux réalisés à un an d'intervalle). La mise en œuvre d'un test pour la détection des HPV en dépistage primaire apparaît « prématurée » (HAS, novembre 2010). Le triage des frottis ASC-US est la seule indication actuellement remboursée du test HPV. Chez une femme ayant un frottis ASC-US, un test HPV négatif permet de conclure à un faux positif de la cytologie. Si le test HPV est positif, la femme peut être référée en colposcopie : dans environ 50 % des cas, une lésion sera détectée (figure 2).

Interprétation d'un test HPV positif :

Un test HPV positif signe la présence d'un ADN-HPV de haut risque (HR) parmi les sous-types testés ; il ne rend pas compte de la présence de lésions.

Un test HPV positif n'est vraiment significatif qu'après l'âge de 30-35 ans. Chez les femmes plus jeunes, le test est positif dans au moins 25 à 30 % des cas (forte prévalence de l'infection HPV). Après 35 ans, il est positif chez environ 10 % des femmes, c'est-à-dire chez celles qui, n'ayant pas éliminé le virus après plusieurs années, développent une infection persistante. Dans tous les cas, un test HPV positif doit être corrélé à la cytologie et/ou à l'histoire clinique. L'intérêt principal de ce test est sa très forte valeur prédictive négative (> 95 %).

Plusieurs organisations médicales d'autres pays tels que les États-Unis et l'Allemagne ont publié des directives pour le dépistage du cancer du col de l'utérus qui incluent le test HPV. Les directives spécifiques régissant la marche à suivre lorsqu'une femme s'avère porteuse de l'HPV ont été publiées dans le numéro d'octobre 2007 de l'*American Journal of Obstetrics & Gynecology*.

	Frottis normal	Frottis non concluant	Frottis anormal
Non porteuse de l'HPV	Refaire un dépistage (test HPV et frottis) tous les 3 ans	Refaire un frottis cervico-utérin au bout de 12 mois	Colposcopie
Porteuse de l'HPV	Refaire le test HPV et le frottis au bout de 12 mois. Si l'un des tests est anormal : colposcopie	Colposcopie	Colposcopie

En outre, en France, le CNGOF (Collège national des gynécologues et obstétriciens français) recommande depuis 2007, un test HPV dans deux cas différents :

- **Lésion CIN1** (figure 3) : Si une CIN 1 a été confirmée et qu'une colposcopie ultérieure s'est avérée satisfaisante, il faut effectuer un frottis et/ou un test HPV au bout de 12 mois. Si l'examen est anormal ou positif, le test de dépistage doit être refait au bout de 18 mois.

- **Après traitement d'une lésion CIN2+** (figure 4) : au bout de trois à six mois il faut effectuer un frottis et un test HPV. Si les deux sont normaux, le prochain frottis cervico-utérin doit être effectué 18 mois plus tard. Si le frottis cervico-utérin est anormal ou si le test HPV est positif, la patiente doit subir une colposcopie.

VACCINATION ANTI-HPV

Les vaccins disponibles

Nom commercial (Laboratoire)	Gardasil® (Merck)	Cervarix® (GSK)
Type de vaccin	Tétravalent Actif sur HPV 16, 18, 11 et 6	Bivalent Actif sur HPV 16 et 18
Adjuvant	Hydroxyaluminium	Hydroxyaluminium
Date des injections	0, 2, 6 mois	0, 1 et 6 mois

Les recommandations vaccinales

Selon le Comité technique des vaccinations (CTV) et le Conseil supérieur d'Hygiène publique de France (9 mars 2007), en France, le vaccin anti-HPV est recommandé chez toutes les **jeunes filles de 14 ans**, afin de les protéger avant qu'elles ne soient exposées au risque de l'infection par ces virus. Ce vaccin doit également être proposé aux **jeunes filles et jeunes femmes de 15 à 23 ans** qui n'auraient pas eu de rapports sexuels ou, au plus tard, dans l'année suivant le début de leur vie sexuelle.

Pourquoi vacciner plutôt les jeunes filles à 14 ans ?

- Après 14 ans, la proportion de jeunes filles ayant des rapports sexuels augmente rapidement avec l'âge (bénéfices attendus du vaccin réduits).

- La tranche d'âge 15-23 ans est celle où peuvent être observées des maladies auto-immunes (associations pathologiques fortuites plus fréquentes).

- Le taux d'Ac protecteurs est d'autant plus élevé que la patiente est jeune.

Il n'y a aucun danger à vacciner une femme qui aurait déjà rencontré le virus ; le seul risque potentiel est que, se sachant vaccinée, elle estime ne plus avoir besoin du dépistage.

Mécanisme d'action de la vaccination

Il repose sur la production d'Ac neutralisants à la surface du col utérin : lorsque le virus est au contact des muqueuses génitales et parvient au niveau du col, les Ac neutralisants l'empêchent de pénétrer les cellules.

Nous savons que dans une population naïve (n'ayant pas été en contact avec des HPV), la vaccination entraîne une séroconversion avec production d'Ac neutralisants à taux très supérieur à celui obtenu après une infection naturelle. Les données immunologiques recueillies au cours des essais cliniques permettent d'anticiper une réponse prolongée dans le temps (au delà de 6 ans).

■ Limites de l'immunogénicité en pratique

Le taux minimum d'Ac protecteurs n'est pas connu et il n'y a pas de corrélation entre le taux d'Ac et l'efficacité clinique du vaccin (ce taux n'est pas reconnu comme « *endpoint* » d'efficacité par l'OMS).

■ Efficacité vaccinale

Avec environ 10 ans de recul, l'efficacité des vaccins anti-HPV est proche de 100 % vis-à-vis des lésions pré-invasives du col de l'utérus, mais aussi de celles du vagin, de la vulve et des condylomes acuminés (pour Gardasil®) associés aux types viraux du vaccin. La protection croisée vis-à-vis d'autres types d'HPV non contenus dans les vaccins est susceptible d'apporter un bénéfice additionnel.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Aubin F., Prétet J.L., Mougin C., *Papillomavirus humains : biologie et pathologie tumorale*, Eds. Lavoisier, TEC & DOC., 2003.
- Clavel C., Birembaut P., *Stratégie du dépistage primaire des lésions pré-cancéreuses et cancéreuses du col utérin par détection des HPV*, Biotribune, 2004; 9 : 20-21.
- Hubbard R.A., *Human papillomavirus testing methods*, Archives of Pathology and Laboratory Medicine, 2004; 127: 940-945.
- Mougin C., Prétet J.L., Dalstein V., *Papillomavirus et cancer du col de l'utérus: Place d'un test de biologie moléculaire dans le dépistage*, Spectra Biologie, 2001; 20 : 29-37.
- Mougin C., Dalstein V., *Épidémiologie, histoire naturelle et détection des infections à HPV*, Biotribune, 2004; 9:16-8.
- Rapport de l'ANAES, 2002. *Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal*, Actualisation 2002, <http://www.anaes.fr>
- Alonso I., Torné A., Puig-Tintoré L.M., Esteve R, et al. *High-risk cervical epithelial neoplasia grade 1 treated by loop electrosurgical excision: follow-up and value of HPV testing*. Am J Obstet Gynecol. 2007 Oct;197(4):359.
- <http://www.cngof.asso.fr>
- Société française de microbiologie, *Papillomavirus humains*, In : RÉMIC : Société Française de Microbiologie Ed ;2015 :705-10.

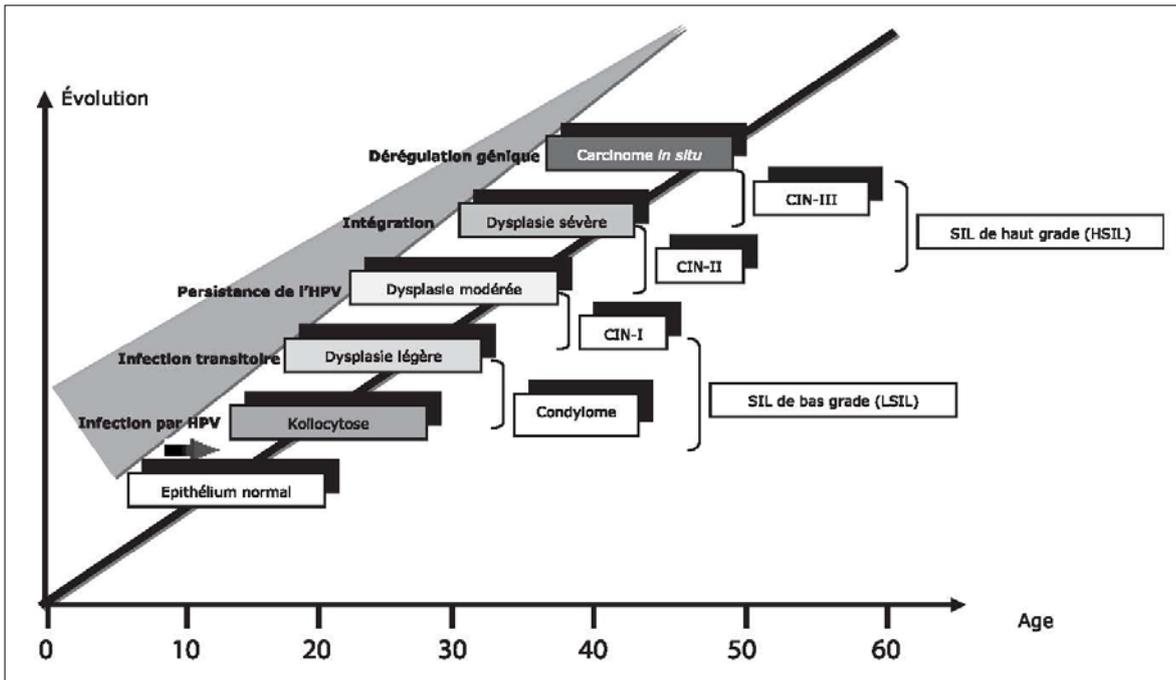


Fig.1. Histoire naturelle de l'infection à HPV – Classification des lésions cervicales selon les critères de Richart, de l'OMS et de Bethesda.

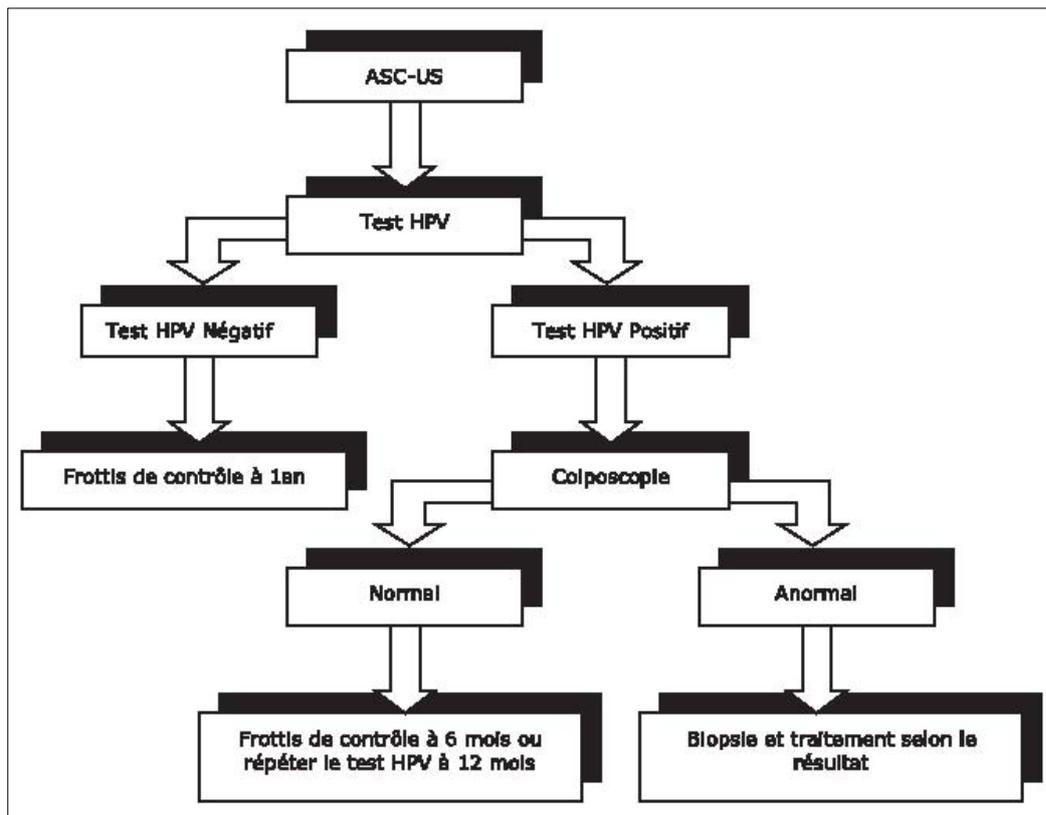


Fig. 2. Identification des HPV et triage des atypies ASC-US – Recommandations françaises (Anaes 2002).

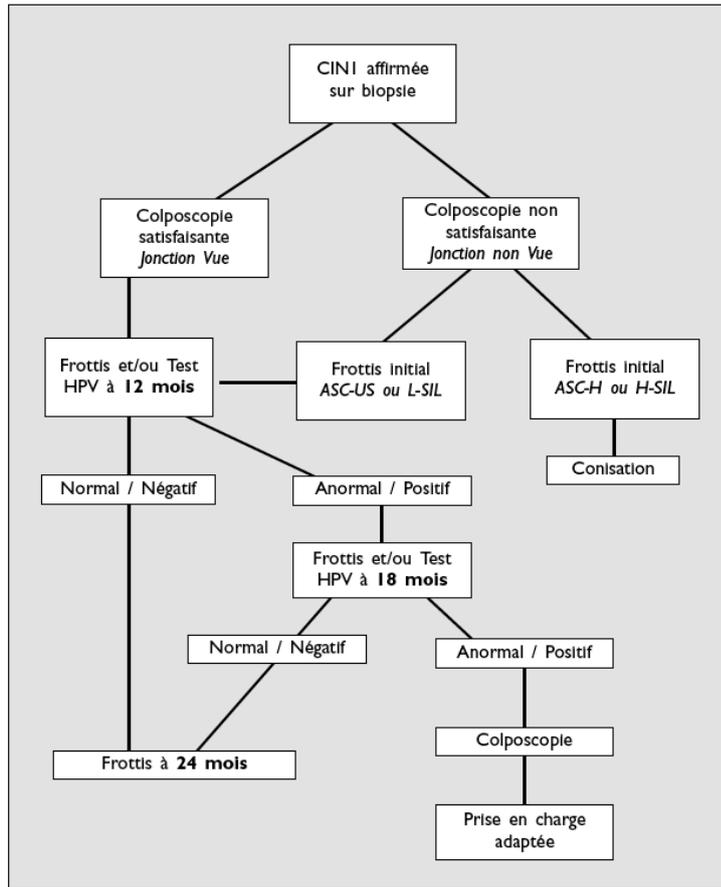


Fig. 3 : prise en charge des CIN1 (CNGOF, décembre 2007).

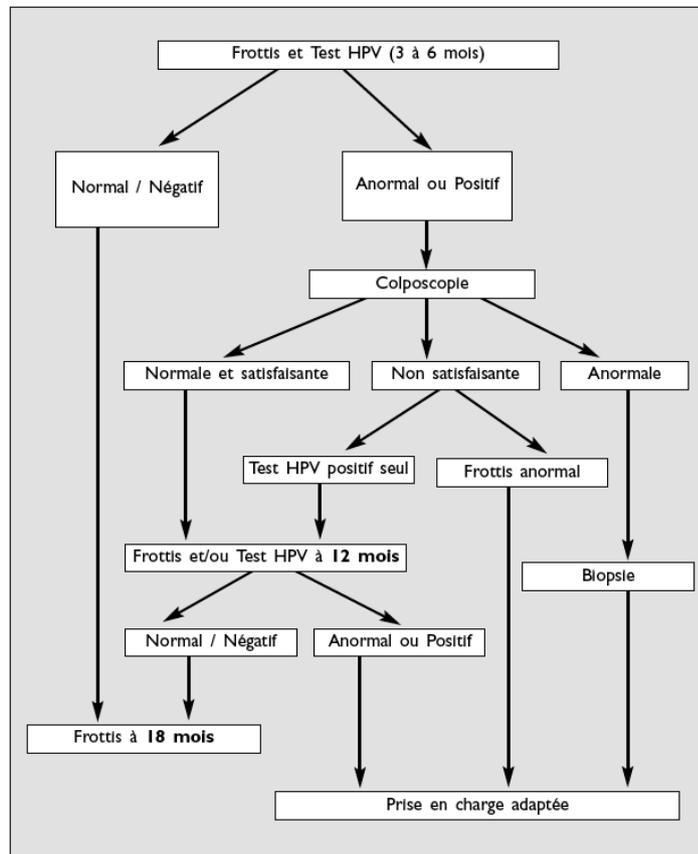


Fig. 4 : conduite à tenir après traitement d'un CIN2+ (CNGOF, décembre 2007)