

Caractéristiques de l'infection par les papillomavirus humains dans des frottis cervicaux normaux en France en 2009

Isabelle Heard (isabelle.heard@pasteur.fr)¹, Anne Gallay², Valentine Fihman¹, Nicolas Duport², Roger Dachez³, Daniel Lévy-Bruhl², Michel Favre¹

1/ Centre national de référence des papillomavirus humains (CNR-HPV), Institut Pasteur, Paris, France

2/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

3/ Institut Alfred Fournier ; Laboratoire Biomnis, Paris, France

Résumé / Abstract

Contexte – La connaissance de la distribution des papillomavirus humains (HPV) détectés dans le col de l'utérus est cruciale afin de pouvoir évaluer une modification éventuelle de l'écologie virale liée à l'introduction de la vaccination contre les HPV6, 11, 16 et 18. En France, peu de données provenant d'études académiques concernant les caractéristiques de l'infection HPV en population générale sont disponibles, tant dans les frottis normaux qu'en cas de lésions cervicales.

Objectif – Décrire les caractéristiques de l'infection HPV dans des frottis cervicaux normaux : prévalence, distribution des génotypes, taux d'infections multiples.

Méthode – Génotypage avec la trousse PapilloCheck® (Greiner Bio-One) de 979 prélèvements de frottis cervicaux normaux réalisés en milieu liquide (Hologic®). Les frottis étaient réalisés par le laboratoire Biomnis qui recueille des prélèvements effectués dans toute la France.

Résultats – L'âge moyen des femmes était de 37,5 ans. Au total, 960 prélèvements ont été analysés. La prévalence globale de l'infection pour les génotypes oncogènes était de 19,3% et variait de 32% chez les femmes âgées de moins de 20 ans à 10% chez celles âgées de 40 à 44 ans. Les deux génotypes les plus fréquemment détectés étaient l'HPV non-oncogène 42 (5,0% des prélèvements) et l'HPV16 (3,5% des prélèvements). Le taux global d'infection par les HPV16/18 était de 4,2%. Parmi les 224 femmes infectées, le taux d'infection multiple était de 35% (79/224).

Conclusion – Ces données montrent que près d'une femme sur 5 ayant un frottis cervical normal est infectée par un ou plusieurs HPV oncogènes, mais que l'infection par les HPV16 ou 18 est beaucoup moins importante.

Distribution of human papillomavirus types in women with normal cervical cytology in France in 2009

Background – Knowledge of the distribution of human papillomavirus (HPV) detected in the cervix is crucial in order to be able to evaluate potential changes in viral ecology related to HPV vaccines, if any. In France, few data from academic studies concerning the characteristics of HPV infection in the general population are available in both normal smears, and in cases of cervical lesions.

Objective – To describe the characteristics of HPV infection in normal smears: prevalence, genotype distribution, rate of multiple infections.

Methods – Genotyping of 979 samples of normal smears performed with the kit PapilloCheck® (Greiner Bio-One) in liquid medium (Hologic®). Smears were performed by the Biomnis Laboratory that collects samples from all over France.

Results – The average age was 37.5 years. The overall prevalence of infection for oncogenic genotypes is 19.3%. It varies from 32% in women aged under 20 years to 10% among those aged 40 to 44 years. The two genotypes most frequently detected were non-oncogenic HPV 42 (5.0% of samples) and HPV16 (3.5% of samples). The overall rate of infection by HPV16/18 is 4.2%. Among infected women, the multiple infection rate is 35% (79/224).

Conclusion – These data show that nearly one in five women with normal smears is infected by one or more oncogenic HPV genotypes, but infection with HPV 16 or 18 is much lower.

Mots clés / Key words

HPV, génotypage, cancer du col de l'utérus, France / HPV, genotyping, cervical cancer, France

Introduction

L'infection par les papillomavirus humains (HPV) représente l'infection sexuellement transmissible la plus fréquente dans le monde. Cette infection, acquise lors des premiers rapports sexuels, est le plus souvent transitoire et est éliminée par le système immunitaire en environ un an [1]. La persistance de l'infection par des HPV à haut risque oncogène (HPV HR) est le facteur majeur de risque de développement de lésions précancéreuses et du cancer du col de l'utérus. On considère actuellement qu'environ 10% des femmes dont le frottis est normal sont porteuses d'une infection HPV au niveau du col de l'utérus. L'absence d'expression cytologique de cette infection permet de considérer celle-ci comme asymptomatique. Le taux d'infection varie de 1,4% à 25,6% en fonction des tests utilisés pour la détection des HPV, de l'origine géographique et de l'âge des femmes [2;3]. En France, il existe peu de données de prévalence de l'infection par les HPV HR [4;5]. L'utilisation de la même technique de détection (*Hybrid Capture II*, HCII) a montré des prévalences variant de 10 à 27%.

La connaissance épidémiologique de la distribution des HPV est actuellement cruciale. Elle devrait permettre d'évaluer l'impact de la vaccination HPV sur l'écologie virale et de contribuer au choix de nouveaux outils de dépistage du cancer du col susceptibles de remplacer l'analyse cytologique de frottis cervico-utérins. En effet, des vaccins capables de prévenir l'infection par les deux génotypes oncogènes responsables de 70% des cancers du col de l'utérus, les HPV16 et 18, sont disponibles depuis quelques années. La vaccination est recommandée en France chez les jeunes filles âgées de 14 ans ou en rattrapage jusqu'à l'âge de 23 ans dans l'année suivant le début de la vie sexuelle¹. Par ailleurs, si l'utilisation de nouvelles stratégies de dépistage du cancer du col reposant sur la détection de l'ADN des HPV HR a été évaluée [6], les recommandations françaises de dépistage récemment mises à jour reposent toujours exclusivement sur la cytologie [7].

¹ Avis du 9 mars 2007, Comité technique des vaccinations et Conseil supérieur d'hygiène publique de France. Disponible à : <http://www.hcsp.fr>, rubrique Avis et rapports du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, section Maladies transmissibles.

Le Centre national de référence des HPV, créé en 2008, a parmi ses missions de contribuer aux études épidémiologiques concernant les infections HPV et au suivi de l'évolution de l'écologie virale (Plan Cancer 2009-13, mesure 16.5). La présente étude a pour objectif de décrire les caractéristiques du portage de l'ADN de HPV détectés par PCR au niveau du col de l'utérus en l'absence d'anomalies au frottis cervical.

Matériel et méthodes

Le laboratoire d'anatomopathologie Biomnis a adressé au Centre national de référence des HPV (CNR-HPV) des prélèvements cytologiques pour frottis conservés dans le milieu de transport ThinPrep® (solution PreservCyt, Hologic®). Ces frottis ont été réalisés, entre le 1^{er} juillet 2009 et le 7 septembre 2009, chez des femmes résidant en Île-de-France ou en province, dans le cadre notamment de dépistages individuels du cancer du col de l'utérus. L'examen cytologique a été réalisé après étalement en couche mince, coloration et pré-lecture par le système d'imagerie Thinprep®. Les prélèvements résiduels de

frottis normaux d'environ 400 femmes âgées de moins de 30 ans, d'environ 200 femmes âgées respectivement de 30 à 39 ans, de 40 et 49 ans et de 50 ans et plus ont été adressés au CNR-HPV pour détection des génotypes. Les prélèvements étaient anonymisés ; les seules indications reportées sur les flacons comprenaient la date de prélèvement, la date de naissance et le département d'habitation de la femme. L'étude a été approuvée par le Pôle intégré de recherche clinique de l'Institut Pasteur le 16 décembre 2009.

Lors de leur réception, les prélèvements étaient enregistrés sur l'outil de suivi d'échantillons pour les laboratoires d'analyses biologiques Lagon. Ils étaient ensuite centrifugés, puis les culots cellulaires étaient lavés avec du PBS avant congélation à -20°C. L'ADN viral a été extrait à l'aide des kits NucleoSpin Tissue® (Macherey-Nagel, Düren, Allemagne). Une première PCR qui amplifie un fragment du gène humain de la bêta-globine a été effectuée pour vérifier la qualité du prélèvement et celle de l'extraction.

Le génotypage HPV a été réalisé sur les échantillons conformes à l'aide de la trousse PapilloCheck® (Greiner Bio-One) selon les instructions du fournisseur. Cette technique est basée sur une PCR avec des amorces fluorescentes consensus dérivées de séquences conservées entre les génomes des HPV. Les produits d'amplification étaient ensuite hybridés avec des sondes immobilisées sur des puces et correspondant à 18 HPV oncogènes ou potentiellement oncogènes (HPV HR) (HP16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73 et 82) et 7 HPV à bas risque oncogène (BR) (HPV6, 11, 40, 42, 43, 44/55) (Greiner Bio-One, manuel d'utilisation de la trousse PapilloCheck®). Les hybrides ont été détectés à l'aide d'un fluorimètre Genepix® 4000B.

La présence d'inhibiteurs de PCR était suggérée lorsque les témoins d'amplification des séquences d'ADN cellulaire et d'ADN HPV incluses dans la trousse PapilloCheck® étaient négatifs.

Les données ont été analysées avec le logiciel Stata® 9.2. Des tests de Chi2 ont été utilisés pour comparer les pourcentages.

Résultats

Au total, 979 prélèvements ont été adressés au CNR. Les caractéristiques des femmes sont présentées dans le tableau 1. Leur âge était compris entre 15 et 86 ans, avec un âge moyen de 37,5 ans ; 75,0% d'entre elles avaient entre 25 et 65 ans. Le lieu d'habitation était connu pour 959 femmes. La moitié des prélèvements provenait de femmes habitant en Île-de-France, 10,1% provenaient de femmes habitant dans le centre de la France (départements du Cher, de l'Indre, de l'Indre-et-Loire, de l'Eure-et-Loir). Les autres prélèvements provenaient essentiellement des régions Nord-Ouest (18,3%) et Nord-Est (16,4%).

Parmi les 979 prélèvements, 19 (1,9%) n'ont pas pu être analysés du fait de la présence d'inhibiteurs de PCR (N=18) et de la perte d'un échantillon avant analyse.

La prévalence globale d'infections par les HPV détectées avec la trousse PapilloCheck® était de

Tableau 1 Caractéristiques des 979 femmes ayant eu un frottis cervical, France 2009 / **Table 1** Characteristics of the 979 women with a cervical smear, France, 2009

| | N (%) |
|-------------------------------------|------------|
| Âge moyen : 37,5 ans [15-86] | |
| < 25 ans | 199 (20) |
| 25-34 ans | 279 (29) |
| 35-44 ans | 203 (21) |
| 45-54 ans | 169 (17) |
| 55-64 ans | 91 (9) |
| ≥ 65 ans | 38 (4) |
| Région d'habitation | |
| Île-de-France | 509 (53) |
| Nord-Ouest | 176 (18,3) |
| Nord-Est | 157 (16,3) |
| Centre | 97 (10,1) |
| Centre-Ouest | 6 (0,6) |
| Sud-Ouest | 5 (0,5) |
| Sud-Est | 9 (0,9) |

23,3% (224/960). Il n'a pas été observé de différence entre les régions (p=0,16). La figure 1 représente les prévalences globales pour les HPV HR et pour les HPV BR selon l'âge des femmes. Un pic d'infection de 40% était observé chez les plus jeunes femmes, âgées de moins de 20 ans. Le taux global d'infection diminuait après l'âge de 20 ans et se situait entre 20 et 30% chez les femmes âgées de 20 à 35 ans puis entre 10 et 20% chez femmes âgées de 35 à 65 ans. Il augmentait légèrement (30%) chez les femmes de plus de 65 ans.

La prévalence d'infection par les HPV HR était de 19,2% (184/960). Le taux d'infection maximal (32,0%) était observé chez les femmes âgées de moins de 20 ans. Il décroissait chez les femmes plus âgées mais restait toujours au moins égal à 10% (figure 1).

Le rapport d'infection par les HPV BR/HR était stable quelles que soient les classes d'âge, aux alentours de 0,20.

Le génotype le plus fréquemment détecté était le HPV BR 42, retrouvé dans 5% des prélèvements (figure 2). Les autres génotypes les plus souvent détectés étaient des HPV HR : le HPV16 dans 3,5% des cas et les HPV31, HPV53 et HPV56 dans 2,6% des cas, chacun.

La prévalence de l'infection par le HPV16 diminuait significativement avec l'âge de 5,9% chez les femmes âgées de moins de 25 ans, à 3,4 % chez les femmes âgées de 25 à 30 ans et à 1,4% chez les femmes de plus de 30 ans (p=0,001).

Une infection par les HPV16 ou 18, était détectée chez 4,3% des femmes. L'infection par les HPV6 ou 11 était retrouvée dans 1% des prélèvements.

Les génotypes détectés chez les 27 femmes âgées de plus de 65 ans étaient des HPVBR (HPV11, 42, 44) mais aussi des HPV HR (HPV31, 39, 51, 52, 56, 59, 66 et 70) et une infection multiple a été détectée dans 3 cas.

Figure 1 Taux d'infection en fonction de l'oncogénicité des HPV (HPV HR et HPV BR) et de l'âge des 960 femmes au moment du frottis, France, 2009 / **Figure 1** Rate of infection according to oncogenicity of HPV (HPV HR and HPV BR) and age of 960 women at the time of the smear, France, 2009

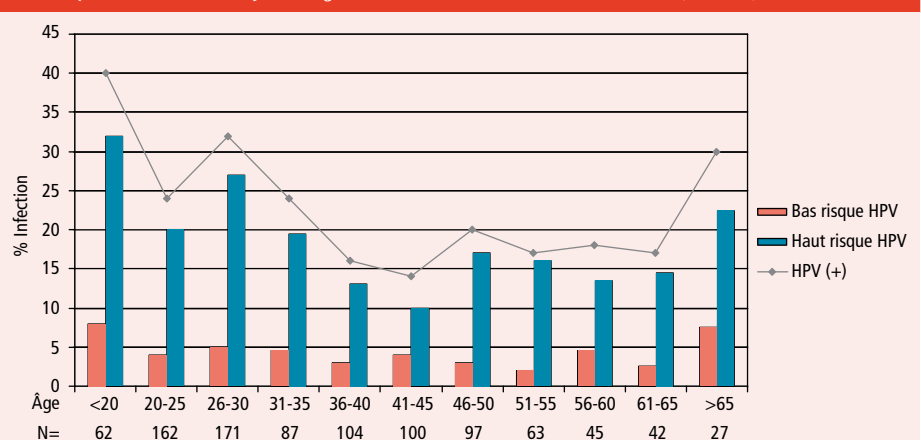
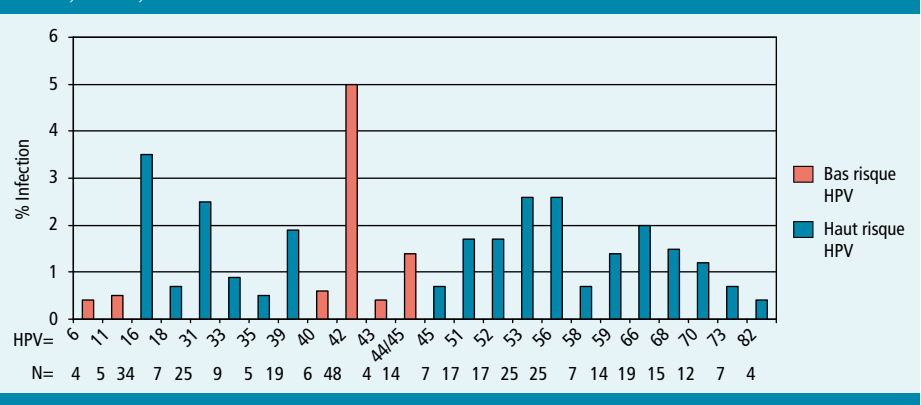


Figure 2 Distribution des 24 génotypes HPV détectés avec la trousse PapilloCheck® (Greiner Bio-One) chez 960 femmes ayant un frottis cervical normal, France, 2009 / **Figure 2** Distribution of 24 mucotropic HPV types detected by PapilloCheck® (Greiner Bio-One) in 960 women with cytologically normal cervical smears, France, 2009



Une infection multiple a été détectée dans 8,2% (79/960) des prélèvements, ce qui correspond à 35% (79/224) des femmes ayant une infection par HPV. L'HPV16 était détecté dans 56% des infections multiples.

Discussion

Cette étude montre que de l'ADN de HPV est détecté par une technique PCR dans 23,2% des frottis normaux et qu'une infection par HPV HR représente 19,2% des cas. La prévalence de l'infection variait selon l'âge des femmes et apparaissait bimodale, avec un premier pic avant 30 ans suivi d'une prévalence moins élevée et d'un rebond après 65 ans. Les deux génotypes les plus souvent détectés étaient les génotypes 42 (5,0%) et 16 (3,5%).

Peu de données de prévalence sont disponibles en France. Deux études réalisées chez des femmes consultant à l'hôpital pour un frottis cervico-utérin (FCU) ont montré une prévalence d'infection par HPV HR variant de 10,8% à 27% avec la trousse HCII [4;5]. Si la prévalence de 19,2% d'infection par HPV HR observée dans notre étude se situe au milieu de celles rapportées dans les deux études citées ci-dessus, elle est en réalité peu comparable à celles-ci. Plusieurs études ont montré que la prévalence de l'infection pouvait varier du simple au double (de 32,1% à 76,0%) pour une même population selon les techniques utilisées (PCR avec les primers PGMY09/11 et SPF10, respectivement) [8]. Ainsi, par exemple, une métaanalyse récente destinée à évaluer la prévalence de l'infection HPV chez des femmes à FCU normal a montré que celle-ci variait de 5,7% si la méthode de détection était HCII, à 41,3% avec une méthode de PCR SPF10 [8]. La technique PapilloCheck® que nous avons utilisée a une sensibilité analytique plus élevée que HCII, en particulier à des faibles concentrations d'HPV, comme c'est le cas dans les FCU normaux. De plus, elle permet de décrire la distribution des HPV alors que la technique HCII a une validation clinique pour le dépistage [10]. Les motifs de réalisation des frottis peuvent également expliquer les différences de prévalences entre différentes études. En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus est recommandé chez les femmes âgées de 25 à 65 ans tous les trois ans après 2 frottis normaux réalisés à un an d'intervalle [7]. Dans notre étude, les prélèvements provenaient de gynécologues effectuant des frottis

dans le cadre du dépistage individuel (ou opportuniste) du cancer du col de l'utérus. Cependant, un quart des prélèvements analysés dans notre étude provenaient de frottis réalisés chez des femmes âgées de moins de 25 ans ou de plus de 65 ans et peuvent donc être considérés comme « hors recommandations ». Dans l'étude de Dalstein *et al.* [5], certains FCU étaient faits dans le cadre d'un suivi de lésions (communication personnelle), ce qui explique probablement la prévalence élevée d'infection. Enfin, l'origine géographique des prélèvements différait également entre les deux études et aucune d'elle ne peut être considérée comme représentative de l'ensemble du pays.

Alors que les données d'une récente métaanalyse montrent que c'est le HPV16 qui est retrouvé le plus souvent dans les frottis cervicaux normaux, en particulier en Europe où il est détecté dans 4,8% des prélèvements [9], celui-ci est retrouvé dans 3,5% des prélèvements de notre étude, soit en deuxième position après l'HPV42 qui est un HPV non oncogène. Nos résultats indiquent que le HPV42, un HPV BR est fréquemment retrouvé au niveau du col. Cette donnée n'est pas fréquente dans la littérature. Il faut cependant noter que HPV42 n'est pas recherché avec la plupart des trousses utilisées à des fins de description de la distribution des génotypes.

La distribution de la prévalence en fonction de l'âge se présente sous la forme d'une courbe bi-modale, avec une légère augmentation observée après l'âge de 65 ans. Différentes hypothèses ont été faites pour expliquer cette augmentation de la prévalence chez des femmes plus âgées observée dans certaines régions du monde [11]. Il a été suggéré que des changements dans la vie sexuelle pouvaient être la cause de nouvelles infections, mais aussi que des infections latentes pouvaient se réactiver, en particulier après la ménopause, suggérant des interactions entre les hormones stéroïdes et le cycle cellulaire de HPV [12]. Les données que nous avons observées doivent être considérées avec précaution du fait du faible effectif dans cette classe d'âge et devront être confirmées. En particulier, nous n'avons aucune information sur les raisons pour lesquelles ces FCU de dépistage avaient été effectués à cet âge, supérieur à celui au-dessus duquel le dépistage individuel est recommandé.

En conclusion, ces données montrent que près d'une femme sur cinq ayant un frottis cervical normal est

infectée par un ou plusieurs HPV oncogènes, mais que l'infection par les HPV16 ou 18 est peu fréquente.

Références

- [1] Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet*. 2007;370 (9590):890-907.
- [2] Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, *et al.* Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005;366 (9490):991-8.
- [3] De Sanjosé S, Diaz M, Castellsague X, Clifford G, Bruni L, Munoz N, *et al.* Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:453-9.
- [4] Clavel C, Masure M, Bory JP, Putaud I, Mangonjean C, Lorenzato M, *et al.* Human papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women. *Br J Cancer*. 2001;84(12):1616-23.
- [5] Dalstein V, Riethmuller D, Prêtre J, Le Bail Carval K, Sautière J, *et al.* Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. *Int J Cancer*. 2003;106(3):396-403.
- [6] Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, 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*. 2010;11(3):249-57.
- [7] Haute autorité de santé. État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus en France. Argumentaire. Juillet 2010. Disponible à : http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_1009772/etat-des-lieux-et-recommandations-pour-le-depistage-du-cancer-du-col-de-luterus-en-france
- [8] Castellsagué X, Menéndez C, Loscertales MP, Kornegay JR, dos Santos F, Gómez-Olivé FX, *et al.* Human papillomavirus genotypes in rural Mozambique. *Lancet*. 2001;358(9291):1429-30.
- [9] Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010;202(12):1789-99.
- [10] Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, *et al.* Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer*. 2009;124(3):516-20.
- [11] Franceschi S, Herrero R, Clifford GM, Snijders PJF, Arslan A, Anh PTH, *et al.* Variations in the age-specific curves of human papillomavirus prevalence in women worldwide. *Int J Cancer*. 2006;119(11):2677-84.
- [12] Castle PE, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Rodriguez AC, Bratti MC, *et al.* A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005;191:1808-16.

Augmentation du dépistage et des diagnostics d'infections à *Chlamydia trachomatis* en France : analyse des données Rénachla (2007-2009)

Véronique Goulet (v.goulet@invs.sante.fr)¹, Édith Laurent¹, Caroline Semaille¹ ; et les biologistes du réseau Rénachla*

1/ Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Résumé / Abstract

La surveillance de l'évolution des infections à *Chlamydia trachomatis* (Ct) en France est réalisée par un réseau de laboratoires volontaires Rénachla. On constate depuis début 2000, une progression annuelle régulière du nombre de diagnostics d'infection à Ct. De 2006 à 2009, on a observé une augmentation de tous les indicateurs : nombre de personnes testées, nombre de diagnostics positifs et taux de positivité. L'augmentation de chacun de ces trois indicateurs est plus marquée chez les femmes (respec

Increase of *Chlamydia trachomatis* diagnoses and screening in France, analysis of RENACHLA data (2007-2009)

Surveillance of *Chlamydia trachomatis* (Ct) infection is monitored in France through a sentinel laboratory-based system (RENACHLA). Since 2000, the number of Ct diagnoses has increased regularly. From 2006 to 2009, we