

# Tests HPV et dépistage du cancer du col : quelles places ?

J.C. BOULANGER <sup>1</sup> \*, H. SEVESTRE <sup>2</sup>  
(Amiens)

## Résumé

*En dépit d'un dépistage cytologique triennal chez les femmes de 25 à 65 ans, on observe en France environ 3 000 nouveaux cancers invasifs du col utérin par an dont 1 000 conduiront au décès. Les deux tiers n'avaient jamais eu de frottis ou à un rythme inapproprié, un tiers avait bénéficié d'un dépistage optimal faussement négatif. Il faut donc généraliser le dépistage et l'améliorer. Le test HPV semble le meilleur candidat à la succession du frottis en raison de sa sensibilité quasi parfaite en dépistage primaire. De nombreuses techniques permettant l'identification de l'infection par l'HPV ont été proposées. La revue des propositions actuelles ne permet pas d'en recommander une sans réserve en dépistage primaire : peu spécifiques pour les tests globaux, non validées pour les tests d'intégration du virus. La tendance en Europe est de préconiser un dépistage par test HPV global suivi d'un triage cytologique des HPV positifs mais aucun pays n'est encore à ce jour passé au dépistage par test viral. Avant de choisir pour la France un*

1 - CHU Amiens - Centre de gynécologie-obstétrique - 124 rue Camille Desmoulins - 80024 Amiens

2 - CHU Amiens - Service anatomo-pathologie - Place Victor Pauchet - 80000 Amiens

\* Correspondance : [boulangerjc@wanadoo.fr](mailto:boulangerjc@wanadoo.fr)

*nouveau test, il est capital de commencer par l'organisation du dépistage. C'est une tâche importante qui demandera du temps ; d'ici là les techniques évolueront encore, peut-être vers un nouveau test vraiment spécifique, à moins que l'amélioration de la sensibilité de la cytologie par l'immunomarquage ou la lecture assistée solutionne le problème.*

*Mots clés : dépistage, cancer du col, CIN, test HPV, génotypage, frottis cervico-utérin*

#### *Abstract*

*In France, Pap test is recommended every third year in sexually active women aged 25 to 65. However 3000 new cases of invasive cervical cancer are diagnosed yearly, with a mortality level of 1000 per year. Pap test may not have been practiced, or in a suboptimal schedule in two thirds of these cervical cancer patients. But in the remaining, optimal Pap test proved to be false negative. Screening has consequently to be optimized, in an organized manner. HPV testing could replace Pap test due to its nearly perfect sensitivity in primary screening. Numerous techniques of HPV infection determination are available. Not a single method can be recommended at the present time: global tests are not specific enough and integrative tests are not validated. In Europe many consider the use of viral screening followed by cytological triage of HPV positive women. However mass viral screening is not yet recommended in any country of Europe. The first step in France is to move from opportunistic screening to organized campaigns. Such an important task will not be completed before years. Meanwhile new tests combining excellent sensitivity and specificity are probably to be developed, unless techniques such as immunocytochemistry and/or computer-assisted microscopy put cytology to a high level of sensitivity.*

#### **Déclaration publique d'intérêt**

Les auteurs déclarent ne pas avoir d'intérêt direct ou indirect (financier ou en nature) avec un organisme privé, industriel ou commercial en relation avec le sujet présenté.

## INTRODUCTION

Le cancer du col se prête idéalement au dépistage. En effet, c'est un cancer fréquent. On sait traiter les formes précoces et les lésions précancéreuses permettant ainsi de faire la prévention secondaire et on dispose, avec la cytologie, d'un test de dépistage simple et efficace. Le fossé qui sépare les chiffres d'incidence et de mortalité dans les pays développés, où le dépistage est installé depuis des dizaines d'années, de ceux des pays en voie de développement est là pour le démontrer [1]. Mention spéciale pour la Finlande, où le dépistage organisé depuis 1963 a permis une réduction de 80 % du nombre de cancers du col, qui a le plus faible taux d'incidence de cette néoplasie au monde actuellement à 4,41/100 000 après avoir même atteint 2,7/100 000 [2-3].

Le problème en France est que ce dépistage n'est pas organisé et on estime la couverture à 55-60 %. C'est la raison pour laquelle nous avons initié en 2006 une étude de l'histoire cytologique des cancers invasifs observés en France [4] présumant que les cancers étaient l'apanage des femmes qui ne se soumettaient pas au dépistage et que ce serait un argument de poids pour plaider auprès de la HAS (Haute Autorité de santé) la cause de l'organisation du dépistage. Effectivement 2/3 des cancers sont observés chez des femmes n'ayant jamais eu de frottis (23,7 %) ou avec un intervalle irrégulier toujours supérieur à 3 ans (43,1 %). Mais 27,3 % des cancers sont observés chez des femmes ayant un frottis rendu normal depuis moins de 3 ans, et cette proportion approche 40 % chez les femmes de moins de 45 ans. Les résultats de Sasieni sont comparables : 47 % des femmes présentant un cancer de grade supérieur à 1B avaient eu un suivi cytologique adéquat [5]. Ceci n'a rien d'étonnant quand on se rappelle que les méta-analyses [6-7] font état d'une sensibilité du frottis cervico-utérin (FCU) de 57 % et de nombreuses études confirment que sa sensibilité est meilleure chez les femmes de plus de 50 ans. D'ailleurs Quinn a bien montré que l'introduction du dépistage organisé au Royaume-Uni en 1987 avait permis une diminution significative de la mortalité par cancer du col chez les femmes de plus de 45 ans sans modifier celle des femmes plus jeunes [8]. C'est pour ces raisons qu'il faut réfléchir à des méthodes de dépistage plus sensibles. C'est évidemment la recherche d'HPV qui est le candidat le mieux placé pour succéder au frottis depuis que Walboomers a montré qu'HPV était nécessaire au développement du cancer [9] ; et de nombreuses voix s'élèvent pour réclamer l'instauration du dépistage par test viral. Mais le portage d'HPV est extrêmement banal et dans une étude que nous avons réalisée en Picardie [10], il était

de 14,7 % dans une population tout venant, 13 % dans une récente étude de Monsonogo [11]. Il est difficile d'utiliser une méthode qui sélectionne près de 15 % de la population ; de plus les résistances au changement sont considérables [12]. Celles-ci ne viennent pas des femmes ni des médecins qui seraient demandeurs d'une méthode supprimant les faux négatifs. Elles sont le fait des décideurs en raison des coûts élevés de mise en œuvre d'une part, mais aussi du manque de connaissance vis-à-vis de l'HPV. Il est certain que l'HPV est la condition nécessaire mais heureusement non suffisante du cancer du col. Beaucoup ont retenu un raccourci : HPV = cancer du col, raccourci qui bien entendu angoisse les patientes, mais aussi de nombreux médecins. Dans ces conditions l'utilisation du test en routine serait très délétère, à l'origine d'inquiétudes et de sur-traitement.

## I. ÉVOLUTION DES IDÉES

Les premières études comparant la sensibilité du test HPV à la cytologie pour le dépistage des lésions CIN2+ ont montré la supériorité écrasante du test viral : 96,1 % *versus* 53 % [13-15] avec 2 avantages supplémentaires :

- chiffres similaires dans toutes les études démontrant la reproductibilité des tests alors que les résultats sont très hétérogènes pour la cytologie, variant de 18,6 à 76,7 % [16] ;
- sensibilité indépendante de l'âge alors que pour la cytologie la sensibilité est moins bonne chez les femmes jeunes : 59,6 % *versus* 79,3 % au-delà de 50 ans [5].

Mais il existe un écueil majeur : c'est la spécificité très inférieure à celle de la cytologie : 90 % *versus* 96,3 %. Au total, il ne nous paraissait pas souhaitable de changer de méthode de dépistage mais plutôt d'améliorer la qualité du dépistage cytologique à l'origine, rappelons-le, du record finlandais.

**Les études européennes** [17-19] : elles comparent le dépistage par détection d'HPV au dépistage cytologique conventionnel, ont en commun d'être réalisées sur deux vagues séparées de 2 à 5 ans. Nous ne détaillerons pas les résultats qui sont bien connus. Rappelons simplement qu'elles concluent que le test viral permet de mettre en évidence 40 à 70 % de lésions CIN2+ à la première vague mais 40 à 70 % de moins à la deuxième vague, si bien que sur les deux vagues de dépistage la performance des deux méthodes est équivalente. On en

tire deux enseignements : les lésions de CIN2+ mises en évidence au 1<sup>er</sup> round ne sont pas comme on a pu le croire des lésions le plus souvent régressives, donc argument pour le dépistage HPV ; mais performance similaire du frottis sur deux tests successifs : ces lésions de CIN2+ sont exceptionnellement des cancers déjà invasifs pour lesquels un dépistage à la première vague serait primordial : il s'agit pour l'essentiel de lésions de haut grade dont le risque de passer à l'invasion entre les deux vagues de dépistage est peu important et *a contrario* un dépistage lors du second frottis retardera d'autant un traitement dont on connaît le retentissement obstétrical [20]. Donc au total ces études n'apportaient pas d'argument suffisant pour remplacer le dépistage cytologique.

**L'étude indienne de Sankaranarayanan** [21] montre que le dépistage par test HPV réalisé sur une population rurale indienne importante (131 746 femmes de 30 à 59 ans) permet une diminution de la mortalité par cancer par comparaison à celle de la population dépistée par frottis ou l'IVA : c'est donc un argument important pour passer au dépistage viral. Mais il s'agit d'une population rurale jamais dépistée antérieurement, très éloignée de la population française et d'autre part les résultats sont difficiles à comprendre puisqu'ils apportent une diminution de la mortalité par cancer et une diminution des formes évoluées, ce qui est cohérent mais pas de diminution des formes précoces, ce qui est peu explicable. Donc toujours *statu quo*.

**L'étude italienne Ronco** étudiant deux cohortes de 47 000 femmes soumises l'une au dépistage cytologique, l'autre au test HPV à deux reprises à 3 et à 5 ans d'intervalle donne, quant à elle, des résultats convaincants [22]. Comme les études européennes elle montre une augmentation de la détection des lésions de CIN2+ à la première vague et une diminution à la seconde. Mais si elle ne montre pas de différence dans la détection des cancers invasifs à la première vague, elle en trouve neuf à la seconde dans le bras cytologie et aucun dans le bras HPV. C'est à notre connaissance la première étude qui apporte la démonstration de l'excellence du test HPV par rapport à la cytologie pour prévenir les cancers invasifs. Elle vient d'être confirmée par un récent travail de Rijkaart qui dénombre à la deuxième vague 4 cancers invasifs dans le bras HPV *versus* 14 dans le groupe contrôle [23].

Ces études nous apparaissent déterminantes pour promouvoir le changement.

## II. UTILISATION DES TESTS HPV EN DÉPISTAGE PRIMAIRE

S'il faut envisager le changement, ce n'est pas aussi simple. D'emblée se posent de multiples questions.

- **Quel test HPV choisir ?** De nombreux sont commercialisés en France (Tableau 1). Le candidat idéal est un test HPV cocktail permettant de détecter les principaux HPV à haut risque (HR-HPV). À ce jour seuls 2 tests ont été évalués à grande échelle et sur études randomisées avec seconde vague : PCR GP5/GP6 et Hybrid Capture 2® (HC2) qui permettent de détecter 13 HR-HPV, mais il en existe de nombreux autres : Amplicor, Cervista...

Tableau 1 - Les principaux tests HPV commercialisés en France en 2012

Test	Laboratoire	cible	Amplif du signal	PCR « conventionnelle »	PCR « temps réel »	quantification	typage
Digene HR HC2	Qiagen	ADN	Hybridation phase liquide			Semi-quantif (brossette)	Non
Amplicor HPV	Roche	ADN		X			Non
Cervista HR	Hologic	ADN	Invader®			Semi-quantif	Non
Cervista 16/18	Hologic	ADN	Invader®			Semi-quantif	Partiel (16/18)
Cobas HPV test	Roche	ADN			X		Partiel (16, 18, autres HR)
Real time HR HPV	Abbott	ADN			X		Partiel (16, 18, autres HR)
HPV4ACE	Seegene/Bionoble	ADN		X			Partiel (16, 18, 6, 11, autres HR)
Digene HPV genotyping RH	Qiagen	ADN		X			Bandelettes 16 types HR
InnoLiPA HPV	Innogenetics	ADN		X			Bandelettes 28 types HR et BR
LinearArray	Roche	ADN		X			Bandelettes 37 types HR et BR
Papillocheck	Greiner	ADN		X			Microarrays 24 types HR et BR
Clart HPV2	Genomica	ADN		X			Microarrays 36 types HR et BR
APTMA	GenProbe	ARN			X (TMA)		14 types HR
NuGene EasyQ	Norchip/Biomarieux	ARN			X (NASBA)		5 types HR identifiés

- **Faut-il utiliser un test HPV seul ou en association avec le frottis ?**

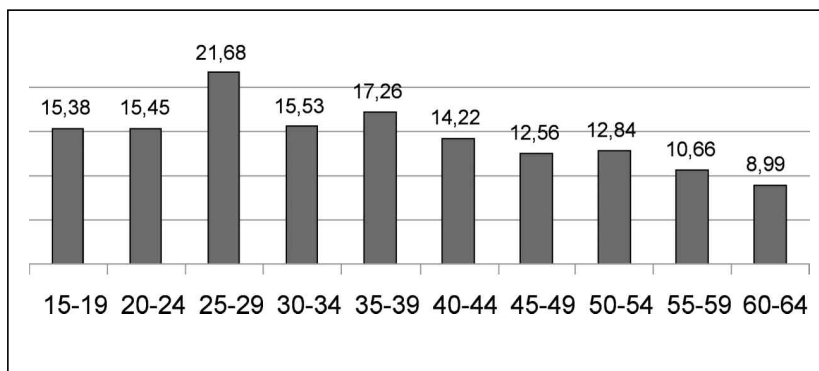
La sensibilité du test combiné est quasi parfaite : 100 % pour Naucler [24]. Dans une étude de Castle la sensibilité à dépister une lésion de CIN3+ était de 92 % pour le test HPV et de 53 % pour le frottis ( $p < 0,0001$ ), l'association du frottis et du test HPV (co-testing) améliore la sensibilité à 96,7 % mais augmente le nombre de colposcopies de 35 % [25]. C'est néanmoins le choix qu'ont fait plusieurs sociétés savantes américaines [26-27]. Mais la tendance majoritaire en Europe est de ne faire que le test HPV.

- **Comment résoudre le problème de la spécificité ?** C'est le problème le plus important [28] puisqu'elle détermine le coût du

dépistage et le taux d'effets indésirables (anxiété, répétition des examens de contrôle, colposcopies et traitements inutiles). Il y a 3 solutions.

- *Utiliser le test HPV à partir de 30, voire 35 ans.* C'est une attitude qui pouvait se concevoir en se référant aux chiffres de Melkert qui notait un portage HPV < 5 % chez les femmes à partir de 35 ans [29]. Les chiffres de notre étude [10] éliminent cette possibilité (Figure 1) puisque le portage reste très élevé bien au-delà de 35 ans. Les chiffres de Clavel [30] qui a colligé la cohorte européenne la plus importante sont voisins. Néanmoins les *guidelines* américains prévoient la possibilité d'utiliser le co-test à partir de 31 ans.

Figure 1 - Portage d'HPV en fonction de l'âge (Amiens 2001)



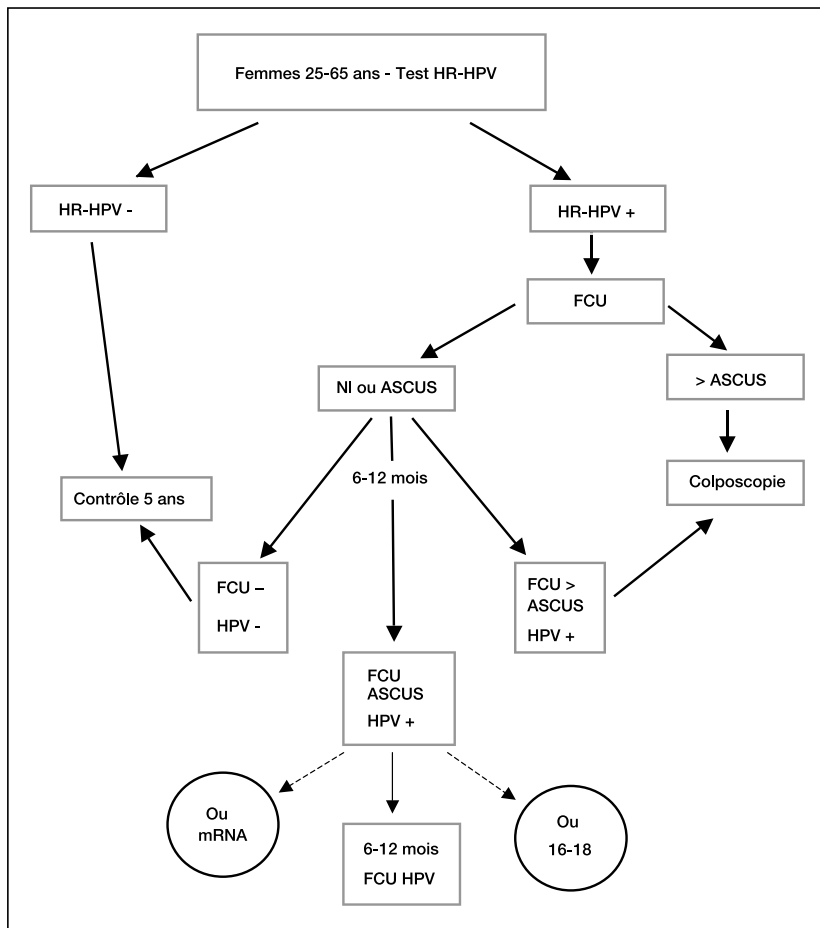
- *Tenir compte de la charge virale.* C'est une idée que nous avons développée et nous avons présenté nos résultats à Londres en 2005 au congrès d'imagerie gynécologique [31]. Au seuil d'un RLU en utilisant HC2, nous avons une sensibilité pour le diagnostic de CIN2+ de 95,9 % au prix de 14,7 % de colposcopies ; au seuil de 3 RLU la sensibilité était de 93 % pour 6,26 % de colposcopies. Les chiffres de Cuzick [32] sont comparables mais supérieurs puisque sensibilité respectivement de 97,1 et 96 % pour des seuils d'un et 2 pg/ml, sensibilité identique à 1 et 2 pg/ml pour Ronco [33], chiffres voisins pour Rijkaart [28]. Curieusement l'écart est très considérable pour Mayrand [34] avec les mêmes seuils : 97,4 et 81,1. Le reproche principal fait à ces travaux est d'avoir été effectués avec HC2 qui n'est pas une méthode destinée à l'évaluation précise de la charge virale.

- *C'est le triage cytologique qui semble faire l'unanimité* : Cuzick [32] en 2003 a le premier démontré que chez les femmes dépistées par le test HPV, le triage cytologique donnait les mêmes résultats que le recours immédiat à la colposcopie. C'est sur cette notion qu'il a bâti son arbre décisionnel [35] (Figure 2). De nombreuses publications ont confirmé le bien-fondé de cette attitude [23, 31, 32, 35]. Il se pose néanmoins plusieurs problèmes : la cytologie de triage a une PPV excellente mais une NPV non acceptable puisqu'à 95 %. Rijkaart a étudié 14 stratégies différentes pour gérer les HPV+, 5 en un temps, 9 en 2 temps avec reconvoication des femmes à 1 an [36]. Parmi les stratégies en un temps, 2 font appel à un génotypage isolé et 3 en association à la cytologie. La cytologie associée à un test HPV16, 18, 31, 33, 45 donne le meilleur résultat puisque sensibilité, NPV, PPV, respectivement sont de 96,3 %, 98,9 %, 20,7 % mais taux de colposcopie de 58,1 %, ce qui correspond à une colposcopie de 2,95 % de la population. Les stratégies en 2 temps font toutes appel à la cytologie de triage suivie 1 an plus tard soit d'un nouveau test HPV, soit d'une nouvelle cytologie, soit de l'association des deux. C'est la nouvelle recherche de HR-HPV qui donne les meilleures sensibilités et NPV (98,9 % et 99,6 %) mais avec une PPV très faible de 19,5 % et surtout un taux de colposcopies de 65 %, soit une colposcopie à 3,34 % de la population globale. Par contre, la répétition à 1 an d'une cytologie isolée donne une sensibilité, NPV, PPV respectivement de 96,6 % 99,3 % et 37,5 %, un taux de colposcopies raisonnable de 33,4 % soit 1,7 % de la population.

La gestion au-delà du premier contrôle des femmes HPV+ cyto- : le risque à long terme chez ces femmes HPV+ à cytologie normale est réel : certes la clearance de l'HPV intervient le plus souvent, toutefois un peu moins souvent et moins rapidement pour les HR-HPV, 70 % à 1 an pour les HPV à bas risque (BR-HPV) contre 40 % pour les HR [37]. Mais la plupart des études relatent le suivi à 1 an. Quand le portage HPV persiste au-delà, on sait que le risque demeure : 29 % de CIN2+ après un temps moyen de 19 mois pour Elfgren [38] et 18 % à 120 mois en cas d'HPV16 [39].



Figure 2 : Algorithme proposé par Cuzick [35]



### III. MAIS LES TESTS HPV COCKTAIL NE SONT PAS LES SEULS UTILISABLES

**Les techniques de génotypage :** peuvent trouver leur place dans le dépistage. Utilisées isolément, leur avantage n'est pas convaincant. Dans une étude comparative des différentes stratégies de dépistage, Naucler note avec un test ciblant HPV16 et 18 une sensibilité pour la

détection des CIN2+ de 50,6 % inférieure à celle de la cytologie conventionnelle qui est de 70,1 % dans cette étude, loin derrière un co-test cytologie-HPV cocktail à 96 % [22] ; par contre un test ciblant HPV16 et 18 associé à une cytologie de triage pour les HPV d'autres types donne une sensibilité de 95,4 %. D'ailleurs dans son arbre décisionnel de dépistage Cuzick fait une place au génotypage 16-18 pour trier les HPV+ cyto- (Figure 2) [35].

**Les ARN messagers (ARNm) :** il est plus intéressant de rechercher les HPV intégrés que reflètent E6/E7 que les formes épisomales qui traduisent une infection le plus souvent passagère. Ils sont mis en évidence par la recherche des ARNm. La présence de transcrits ARNm est corrélée à l'existence de lésions. Plusieurs techniques permettent leur étude. Utilisées en dépistage elles permettent un gain en spécificité considérable au prix d'une baisse de sensibilité. Mais avec le perfectionnement des nouveaux tests on arrive progressivement à la sensibilité des tests HPV cocktail avec une spécificité voisine de la cytologie. C'est ce que démontre la Fase study [40-41] qui compare en dépistage HC2, cytologie en milieu liquide (LBC) et APTIMA® HPV Assay (AHPV, Gen-Probe Incorporated) qui permet la détection de 14 types de HR-HPV RNA ; les résultats apparaissent dans le tableau 2.

Tableau 2 : Sensibilité-Spécificité / méthodes de dépistage [40]

Test	Âge	CIN2+		CIN3+	
		Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
LBC Seuil ASCUS	20-65	69,1 %	91,9 %	73,3 %	90,8 %
	20-29	67,7 %	88,4 %	81,4 %	86,9 %
	30-65	69,7 %	93,1 %	70,7 %	92,2 %
HC2 Seuil 1 pg/ml	20-65	96,7 %	86,4 %	95,3 %	84,9 %
	20-29	99,7 %	79,1 %	98,2 %	76,9 %
	30-65	95,0 %	88,8 %	93,8 %	87,6 %
AHPV Seuil $\geq 1,0$	20-65	92,0 %	91,8 %	95,7 %	90,3 %
	20-29	99,7 %	87,4 %	98,2 %	84,9 %
	30-65	87,7 %	93,2 %	94,5 %	92,1 %

Le taux de patientes référées en colposcopie est de 9,2 % pour Aptima, à peine supérieur à celui de la cytologie, très inférieur à celui d'HC2 qui est de 13,8 % témoignant d'une meilleure spécificité.

La recherche d'ARNm est aussi une option évoquée par Cuzick pour le triage des HPV+ cyto- [34].

**Il existe d'autres possibilités telles l'amplification de transcrits ARN épissés (ARN E6\*1 et 2) et la mesure du rapport entre transcrits**

(ARNm E6 et E2) dont on peut rapprocher le rapport entre charge d'ADN E6/E2) [42, 43].

**Chen a proposé en 2012 la mesure du TERC (gène de la télomérase)** qui, utilisé en dépistage primaire, permettrait une sensibilité de 90 % avec une spécificité de 89,6 [44].

**L'immunomarquage de la P16 dans les cellules épithéliales** ne fait pas partie des tests HPV mais est un marqueur indirect de l'activité de l'oncoprotéine E7 d'un HR-HPV. C'est pourquoi il faut l'envisager ici. Au niveau moléculaire la protéine du gène du rétinoblastome (pRb) est habituellement liée à E2F qui bloque l'activation du cycle cellulaire par un mécanisme de phosphorylation. La surexpression de la P16 est liée à une interférence entre l'oncoprotéine virale E7 et pRb. C'est donc un moyen indirect de diagnostiquer la présence d'une infection qui plus est transformante à HR-HPV. Elle a d'abord été utilisée en histologie pour aider l'interprétation de biopsies difficiles et augmentait de façon très significative l'agrément inter-observateur [45], puis en cytologie dans le triage des frottis ASC-US et bas grade pour détecter les lésions de CIN2+ [46-48].

**La détection conjointe de Ki-67**, marqueur de prolifération, améliore significativement la spécificité [49-51]. Elle a d'abord été utilisée dans ce contexte pour détecter les lésions de CIN2+ dans les frottis avec atypies cytologiques mineures ; sensibilité de 92,2 % pour les frottis ASC-US, et de 94,2 % pour les frottis LSIL et spécificité respectivement de 80,6 % et 68 %. Il est important de noter que ces chiffres ne sont pas influencés par l'âge : identiques avant ou après 30 ans. Plusieurs études récentes montrent son intérêt en dépistage primaire pour le triage des HPV+ cytologie négative. Petry observe une sensibilité pour la détection des CIN2 de 91,9 % et de 96 % pour les CIN3 avec une spécificité respectivement de 82 % et 76,9 %.

## DISCUSSION

Le test HPV extrêmement sensible est donc en dépistage primaire un excellent candidat à la succession du frottis dont le taux de faux négatifs est inacceptable.

Il a en outre un avantage supplémentaire, la possibilité d'auto-administration du test : elle a été étudiée par Zhao [52] qui rapporte cinq études totalisant plus de 13 000 patientes avec une sensibilité pour le dépistage des CIN3 de 86,1 % certes inférieure à celle des prélèvements

réalisés par le praticien (97,8 %), mais néanmoins très supérieure à celle de la cytologie. Les résultats de Dijkstra sont tout à fait comparables [53].

Mais il existe des points négatifs importants.

**Le coût** : si on ne considère que le prix du test de dépistage, le coût du test HPV est élevé, environ 4 fois plus cher que le frottis. Mais il faut tenir compte de l'espacement des tests de dépistage rendu possible par l'adoption d'une méthode plus sensible. Dans une communication faite à Eurogin Lisbonne 2011 [54] nous avons présenté les résultats d'une étude personnelle et compilé les principales séries de la littérature (Tableau 3) : le risque de CIN2 ou plus est infiniment plus faible après test viral négatif qu'après cytologie négative autorisant à augmenter le délai entre 2 vagues de dépistage. La majorité des auteurs propose de l'espacer à 5 voire 6 ans. Et on pourrait probablement l'augmenter davantage au-delà de 40 ans [55].

Tableau 3 - Risque de CIN2+ après FCU négatif/HPV négatif [54]

Auteur	N cas	Suivi/an	FCU négatif	HPV négatif
Dillner 2008	24 295	6	0,97 %	0,27 %
Sherman 2003	20 810	10		0,79 %
Hoyer 2005	4 034	5	2,5 %	0,7 %
Bulkmans 2005	2 810	4,6	0,17 %	0,03 %
Notre étude CIN3+	3 616	6	0,58 %	0,16 %
Notre étude CIN2+	3 616	6	1,18 %	0,32 %
Notre étude CIN2+	3 616	9	1,63 %	0,55 %

Mais pour évaluer réellement le coût il faut tenir compte de tous les paramètres : coûts médicaux et non médicaux associés au dépistage et au traitement.

- Coûts médicaux du dépistage, du diagnostic (colposcopies, biopsies) et du traitement des CIN ; coûts des bilans préthérapeutiques et des traitements des cancers.
- Coûts non médicaux : transports nécessités par le dépistage, les examens complémentaires souvent itératifs nécessaires, le traitement, et la « perte de production ».

Une étude très complète a été effectuée en Norvège par Burger [56]. Les résultats sont évalués en coût par année de vies sauvées. La

meilleure stratégie est le dépistage par test HPV tous les 4 ans à partir de 34, voire 31 ans. Enfin dans une étude récente, de Kok concluait que dans les pays européens où le dépistage est bien implanté l'évaluation coût-bénéfice montre l'intérêt de passer au dépistage par HPV [57].

Donc le coût n'est pas un élément limitant quand on ne s'arrête pas au seul prix du test.

**Lavis des femmes** : les connaissances sont faibles. Point positif : certaines savent que le risque de faux négatifs est considérablement réduit par rapport au frottis. Il existe en France un groupe de pression pour la promotion du test HPV en dépistage.

Mais les points négatifs sont importants. Nombreuses sont celles qui font le raccourci trop fréquemment répandu HPV = cancer, ce qui génère une angoisse importante. En outre, beaucoup sont effrayées par cette infection sexuellement transmise et craignent une stigmatisation.

**La compliance des patientes** : les reconvoctions exposent à perdre de vue les patientes et finalement 77 % sont effectivement suivies [17], voire seulement 60 % [35] ce qui réduit considérablement le gain de sensibilité apporté par cette nouvelle modalité de dépistage.

## FINALEMENT

***On ne peut continuer à admettre qu'un cancer évitable soit aussi mal évité.***

- Il faut absolument relancer la vaccination chez les scolaires naïves à l'instar de ce qui se fait en Australie et au Royaume-Uni.
- Il faut commencer par ne plus rembourser les frottis réalisés à un intervalle inférieur à 3 ans.
- Il faut organiser le dépistage comme prévu dans les recommandations de l'INCa (Institut national du cancer) en juillet 2010... non suivies d'effet à ce jour. C'est primordial : notre enquête a démontré que 2/3 des cancers invasifs observés en France surviennent chez des femmes non dépistées ou à un rythme très espacé toujours supérieur à 3 ans [4]. C'est le préalable indispensable à tout éventuel changement de technique.
- Ensuite il faudra changer de technique de dépistage car on ne peut tolérer qu'un tiers des cancers survienne chez des femmes se soumettant à un dépistage optimal.

L'habitude en matière de politique de santé est de copier ce qui se fait dans d'autres pays.

Les États-Unis ont opté pour un frottis triennal tous les 3 ans entre 21 et 65 ans et à partir de 31 ans le choix entre la poursuite selon les mêmes modalités ou un co-test tous les 5 ans [25, 27], mais aucun pays européen n'a encore à ce jour remplacé la cytologie par le test HPV dans un programme national. Le premier à le faire sera probablement les Pays-Bas où les études préliminaires ont débuté depuis longtemps sur des populations très importantes ; mais la « *National screening agency* » (RIVM) qui évalue les possibles difficultés de ce changement n'a pas encore rendu ses conclusions et le passage au dépistage HPV est attendu pour 2013-2014.

En France, le souhait de beaucoup de professionnels serait d'adopter cette attitude en passant rapidement au dépistage HPV au-delà de 30 ans. C'est une tendance qui est sur les rails et plusieurs expériences pilotes en cours à l'instigation de l'INCa étudient la faisabilité d'un dépistage par test HPV cocktail. Toutes envisagent le triage cytologique des HPV positifs et la réflexion porte sur la meilleure gestion des HPV+ cyto-. Est-ce bien nécessaire d'attendre les résultats de ces études pour agir puisque les études menées à l'étranger ont déjà répondu à cette question [22-35] ? En tous cas il n'est pas question de commencer en dehors d'un dépistage organisé.

***Nous émettrons en outre deux réserves.***

- Est-il raisonnable de ne pas modifier le dépistage chez les femmes jeunes alors que c'est dans ces tranches d'âge que la fréquence du cancer invasif augmente de façon significative ? Dans une étude récente réalisée sur la population du nord-est de l'Angleterre, Patel note entre 2000 et 2009 une augmentation du nombre de cancers de 10,3 % par an chez les femmes de 20 à 29 ans, de 3,5 % par an de 30 à 39 ans alors qu'il n'y a pas de modification significative au-dessus de 40 ans [59]. C'est justement chez ces femmes jeunes que les faux négatifs sont les plus fréquents. D'ailleurs l'augmentation de la fréquence des cancers chez la femme jeune est strictement identique au pays de Galles où le dépistage cytologique débute à 20 ans. La méta-analyse de Cuzick [15] a bien montré que la sensibilité du test HPV ne varie pas avec l'âge (NP 2). Le souci est la spécificité du fait de la fréquence du portage d'HPV à cet âge. Dans la population certes particulière d'une Youth Clinic suédoise, le portage d'HR-HPV est de 61,6 % [60]. Les chiffres de la récente publication de Monsonego correspondent à une population tout venant et

montrent des chiffres plus raisonnables : 23,5 % < 25 ans, 22,2 % de 25 à 34 ans, 12,4 % de 35 à 44, 8,8 % au-delà [11]. Reste tout de même à trouver une solution à ce manque de spécificité. Le dépistage par ARNm est mieux adapté à une utilisation chez la femme jeune puisque HC2 est positif dans une cohorte de 5 000 femmes dans 15,7 % des cas, 23,5 avant 29 ans et 13 à partir de 30 ans. Les chiffres pour Aptima sont respectivement de 10,15 % et 8,5 % des cas.

- Dans l'étude que nous avons réalisée en 2006, peu de femmes avaient bénéficié d'un co-test : sept au total sur 524. Quatre étaient positifs et trois étaient négatifs, respectivement 6 mois, 1 an et 3 ans avant le diagnostic de cancer invasif. Il n'est pas question de tirer une conclusion négative sur une si courte série mais il faut bien se rendre à l'évidence que quelle que soit la méthode de dépistage choisie il y aura toujours des faux négatifs, faux négatifs réels ou liés à une mauvaise réalisation du test.

***Alors faut-il passer au dépistage viral ou y a-t-il d'autres possibilités ?***

- CINtec Plus® dont on a vu l'intérêt pour détection des CIN2+ dans les frottis présentant des anomalies cytologiques mineures a été étudié en dépistage primaire chez 27 349 femmes de 18 à 65 ans en comparaison avec la cytologie et le test HPV [61].

Il est significativement plus sensible que la cytologie : 93,3 % *versus* 67,7 % chez les moins de 30 ans et 87,8 % *versus* 64,9 % chez les plus de 30 ans et a une spécificité identique quel que soit l'âge. Comparé au test HPV chez les femmes de plus de 30 ans il est légèrement moins sensible : 87,8 % *versus* 95,6 %, mais avec une spécificité supérieure : 96,3 % *versus* 93,1 %. Donc le gain de sensibilité par rapport à la cytologie est chez les femmes de plus de 30 ans comparable à celui du test HPV avec une spécificité très supérieure. Chez les femmes de moins de 30 ans chez qui le test HPV n'est pas recommandé le gain de sensibilité par rapport à la cytologie est aussi remarquable. S'il était utilisé il aurait l'avantage de ne pas modifier les habitudes des soignants et pour les femmes d'éviter les répercussions psychologiques de l'annonce d'un test HPV positif.

En outre il aurait l'avantage d'unifier la méthodologie de dépistage de 25 à 65 ans.

- Il ne faut pas oublier l'imageur pour lequel on est en attente de publications depuis les travaux prometteurs de Zhao [62] qui ne trouvait que 2,4 % d'HPV positif chez les femmes dont le frottis lu à l'imageur était positif. Il semble qu'utilisé sur une large

échelle il permette une augmentation significative de la détection du nombre de CIN2+ comparable au test viral. Évaluée sur 271 000 FCU en 2012, comparés à 374 000 en 2008, elle est de 56,25 % (Bergeron communication personnelle).

***Enfin quelle que soit la méthode qui sera finalement choisie : est-il important de détecter toutes les lésions de haut grade ?***

Beaucoup sont régressives et n'aboutiront probablement jamais au cancer invasif [63]. Les CIN2 régressent souvent et c'est aussi le cas pour nombre de CIN3 [64-71]. Pour Petersen le risque de cancer invasif est de 26,8 %, mais Clemmensen reprenant cette même série 12 ans plus tard fait état d'un taux supérieur à 40 % [64]. Il est de 24 % pour Lange, variable selon l'âge : 50 % au-delà de 35 ans, moins de 10 % en dessous. Pour Kottmeier le risque serait de 13,5 % à 10 ans et de 73 % 15 ans plus tard. Il y a peu de travaux récents consacrés à l'histoire naturelle des CIN. Pour McCredie le risque est de 31,3 % à 10 ans. Ces chiffres très disparates s'expliquent vraisemblablement par le manque de critères anatomopathologiques précis de lésions précurseurs dans les publications anciennes. Sasieni estime que tout au plus 1,5 % des femmes jeunes traitées pour CIN3 auraient développé un cancer et que plus de la moitié des lésions auraient régressé vers 25 ans. Donc nombre de femmes jeunes pourraient ne pas être traitées et donc les effets délétères des traitements évités. Il faudrait savoir repérer les CIN3 qui progresseront vers un cancer invasif.

Les HPV à l'origine des cancers invasifs sont par ordre de fréquence décroissante les types 16, 18, 45, 33, 31, 52, 58 et 35 [72]. Toutes les études réalisées dans le monde ont montré la responsabilité primordiale des HPV16 et 18 : 70,7 % pour Munoz, 81,8 % pour Pretet [73, 74]. Powell dans une étude de 262 cancers invasifs a montré que l'âge moyen au diagnostic des cancers associés avec HPV16, 18, 45 était significativement moins élevé que pour les autres types, et surtout a montré l'odds ratio incroyablement élevé pour HPV16 : 2 770 [75] (Tableau 4). Enfin l'âge est important car le risque de cancer invasif avec portage d'HPV16 à plus de 40 ans est 30 fois plus important qu'à moins de 40 ans. Et on sait que la clearance virale est inversement proportionnelle non seulement à l'âge, mais à la parité et à la charge virale [76]. Donc il serait probablement plus intéressant de cibler les lésions de haut grade à HPV16 et 18 voire 45, et particulièrement celles à charge virale HPV16 élevée [76]. Ce sont vraisemblablement celles qui évoluent vers l'invasion et qu'il est important de ne pas manquer. Ne pourraient être traités que les CIN3, HPV16 ou 18 au-delà de 35 ans et avant 35 ans les CIN3, HPV 18 ou HPV16 à charge virale élevée.



Tableau 4 - Association cancer invasif/types HPV (Powell [75])

HPV Type	N cas	N contrôles	OR (crude)	OR (ajusté âge)	95 % IC
HPV 16	180	254	774	2 770	1 050-7 320
HPV 18	47	161	319	950	330-2 740
HPV 31	6	174	38	115	26-512
HPV 33	10	103	106	188	49-723
HPV 35	7	89	85	81	17-383
HPC 39	2	100	21	20	2,8-146
HPV 45	14	95	161	386	112-1 340
HPV 51	0	67	0	0	
HPV 52	3	58	37	79	13-473
HPV 56	2	84	26	17	2,1-153
HPV 58	7	144	53	67	14-306
HPV 59	5	76	71	70	15-333
HPV 66	3	66	49	61	9,7-386
HPV 68	0	21	0	0	
HPV autre	255	782	356	1 190	478-2 990
HPV nég	7	7 646			

*Enfin il faut prévoir le dépistage chez les femmes vaccinées* puisque le vaccin ne couvre que 2 types de virus oncogènes. C'était 30 % de la population de moins de 18 ans avant le coup d'arrêt consécutif à l'affaire du Médiateur, en espérant qu'il ne sera que passager.

C'est un problème encore tout à fait marginal puisque le dépistage commence en France à 25 ans : les jeunes femmes qui ont été vaccinées à 14 ans ne commenceront le dépistage que dans 10 ans. La question ne se pose actuellement que pour les femmes ayant bénéficié d'une vaccination de rattrapage ces dernières années. Il est classique de dire [78, 79] que si les frottis anormaux ont actuellement une fréquence d'environ 4 % dans une population non sélectionnée, la prévention vaccinale va les réduire à 1-2 %, entraînant une diminution de l'expertise des cytologistes donc une baisse de la sensibilité de la cytologie. C'est un argument supplémentaire pour prôner le dépistage par test viral. Mais puisque les lésions sont dues à HPV16 et 18, les plus fréquentes vont disparaître, les CIN2+ seront plus rares : il ne persistera que les lésions dues aux autres types d'HPV. La sensibilité du test HPV pour détecter ces lésions va rester élevée mais quand un test sera positif, sa VPP sera encore moins bonne. Puisque ces lésions sont 4,5 à 6 fois moins évolutives que celles à 16 ou 18, il apparaît possible de commencer le dépistage à 30 ans et d'espacer les tests. C'est ce qui est prévu aux Pays-Bas pour toutes les femmes, vaccinées ou non.

## CONCLUSION

Il est clair qu'il faut non seulement organiser le dépistage mais changer de technique car il n'est plus tolérable d'utiliser une méthode donnant autant de faux négatifs. Le test HPV est le candidat actuellement le mieux placé pour prétendre à la succession de la cytologie. De nombreux tests d'identification de l'infection par l'HPV sont disponibles. Ils ont une sensibilité quasi parfaite sans aucune comparaison avec la cytologie mais leur spécificité faible les rend difficiles d'utilisation en dépistage primaire. Plusieurs solutions sont proposées : test HPV cocktail et triage des HPV+ par cytologie, génotypage ne recherchant que les HPV16 18 voire 45, recherche des ARN messagers. En Europe c'est le dépistage par test HPV cocktail et cytologie de triage des HPV+ qui sera probablement choisi. Mais les études sur la faisabilité de son utilisation en dépistage primaire sont toujours en cours et aucun pays n'est encore passé au dépistage par test viral. En France cette tendance est espérée par beaucoup de praticiens mais il est impensable de changer de méthode avant que le dépistage soit organisé. Ceci demandera sûrement beaucoup de temps ; on peut se demander, avec l'évolution incessante des techniques, si l'on ne va pas voir apparaître un nouveau test aussi sensible et vraiment spécifique. Cela pourrait venir d'un nouveau test HPV mais aussi d'une amélioration de la sensibilité de la cytologie par les techniques d'immunomarquage et la lecture assistée par imageur. Des publications préliminaires permettent de l'évoquer.

## Bibliographie

- [1] [http://globocan.iarc.fr/summary\\_table\\_pop\\_sel.asp](http://globocan.iarc.fr/summary_table_pop_sel.asp).
- [2] Nieminen P, Kallio M, Hakama M. The effect of mass screening on incidence and mortality of squamous and adenocarcinoma of cervix uteri. *Obstet Gynecol* 1995;85:1017-22.
- [3] Nieminen P, Kallio M, Antilla A, Hakama M. Organised versus spontaneous Pap-smear screening for cervical cancer: a case-control study. *Int J Cancer* 1999;83:55-8.
- [4] Boulanger JC, Fauvet R, Urrutiaguer S, Drean Y, Sevestre H, Ganry O, Bergeron C, Gondry J. Cytological history of cases of invasive cervical cancer diagnosed in France in 2006. *Gynecol Obstet Fertil* 2007 Sep;35(9):764-71.
- [5] Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. *Br J Cancer* 1996;73:1001-5.
- [6] Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* 1995 Apr 1;141(7):680-9.
- [7] Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000 May 16;132(10):810-9. Review.
- [8] Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. *BMJ* 1999 Apr 3;318(7188):904-8.
- [9] Walboomers JMM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJF, Peto J, Mrijer CJL, Munoz N. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-19.
- [10] Boulanger JC, Sevestre H, Bauville E, Ghighi C, Harlicot JP, Gondry J. Épidémiologie de l'infection à HPV. *Gynecol Obstet Fertil* 2004 Mar;32(3):218-23.
- [11] Monsonego J, Zerat L, Syrjänen K, Zerat JC, Smith JS, Halfon P. Prevalence of type-specific human papillomavirus infection among women in France: implications for screening, vaccination, and a future generation of multi-valent HPV vaccines. *Vaccine* 2012 Jul 27;30(35):5215-21.12.
- [12] Monsonego J. HPV testing and cervical cancer screening. Evidences, resistances and current practices. *Gynecol Obstet Fertil* 2012 May;40(5):269-72.
- [13] Cox T, Cuzick J. HPV DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies. *Gynecol Oncol* 2006;103:8-11.
- [14] Lörincz AT, Richart RM. Human papillomavirus DNA testing as an adjunct to cytology in cervical screening programs. *Arch Pathol Lab Med* 2003 Aug;127(8):959-68.
- [15] Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Ifner T. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006 Sep 1;119(5):1095-101.
- [16] Origoni M, Cristoforoni P, Costa S, Mariani L, Scirpa P, Lorincz A, Sideri M. HPV-DNA testing for cervical cancer precursors: from evidence to clinical practice. *Ecancermedical science* 2012;6:258.
- [17] Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, Rådberg T, Strander B, Johansson B, Forslund O, Hansson BG, Rylander E, Dillner J. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007 Oct 18;357(16):1589-97.
- [18] Bulkman NW, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Boeke AJ, Bulk S, Voorhorst FJ, Verheijen RH, van Groningen K, Boon ME, Ruitinga W, van Ballegoijen M, Snijders PJ, Meijer CJ. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. *Lancet* 2007 Nov 24;370(9601):1764-72.
- [19] Kitchener HC, Almonte M, Thomson C, Wheeler P, Sargent A, Stoykova B, Gilham C, Baysson H, Roberts C, Dowie R, Desai M, Mather J, Bailey A, Turner A, Moss S, Peto J. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2009 Jul;10(7):672-82.
- [20] Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C, Raifu

AO, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Prendiville W, Paraskevaids E. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. *BMJ* 2008 Sep 18;337: a1284.

[21] Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, Hingmire S, Malvi SG, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar VR, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw KA. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med* 2009 Apr 2;360(14):1385-94.

[22] Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P, Del Mistro A, Ghiringhello B, Girlando S, Gillio-Tos A, De Marco L, Naldoni C, Pierotti P, Rizzolo R, Schincaglia P, Zorzi M, Zappa M, Segnan N, Cuzick J; New Technologies for Cervical Cancer screening (NTCC) Working Group. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2010 Mar;11(3):249-57.

[23] Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Bulkmans NW, Heideman DA, Kenter GG, Cuzick J, Snijders PJ, Meijer CJ. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final results of the POBASCAM randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2012 Jan;13(1):78-88. Epub 2011 Dec 14.

[24] Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, Rådberg T, Strander B, Forslund O, Hansson BG, Hagmar B, Johansson B, Rylander E, Dillner J. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst* 2009 Jan 21;101(2):88-99.

[25] Castle PE, Stoler MH, Wright TC Jr, Sharma A, Wright TL, Behrens CM. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol* 2011 Sep;12(9):880-90. Epub 2011 Aug 22.

[26] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, Garcia FA, Moriarty AT, Waxman AG, Wilbur DC, Wentzensen N, Downs LS Jr, Spitzer M, Moscicki AB, Franco EL, Stoler MH, Schiffman M, Castle

PE, Myers ER. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2012 Apr;137(4):516-42.

[27] Moyer VA. Screening for Cervical Cancer: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med* 2012 Jun 19;156(12):880-91, W312.

[28] Rijkaart DC, Coupe VM, van Kemenade FJ, Heideman DA, Hesselink AT, Verweij W, Rozendaal L, Verheijen RH, Snijders PJ, Berkhof J, Meijer CJ. Comparison of Hybrid capture 2 testing at different thresholds with cytology as primary cervical screening test. *Br J Cancer* 2010 Sep 28;103(7):939-4626.

[29] Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ, Risse EK, van Diest PJ, Bleker OP, Helmerhorst T, Schipper ME, Meijer CJ, Walboomers JM. Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependent. *Int J Cancer* 1993 Apr 1;53(6): 919-23.

[30] Chucherouset J, Bory JP, Nazeyrollas P, Gabriel R, Quereux C, Birembaut P, Clavel C. Intérêt du typage HPV dans le dépistage primaire du cancer du col. Une expérience sur une série de 10 569 femmes. *Gynécologie Pratique* 2003;153: 16-18.

[31] Boulanger JC, Sevestre H. Clinical indications for HPV testing. Imaging and ambulatory gynaecology . Communication orale. London16/12/2005http://www.docstoc.com/docs/80367106/London-UK-more-info-International-College-of

[32] Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, McGoogan E, Menon U, Terry G, Edwards R, Brooks C, Desai M, Gie C, Ho L, Jacobs I, Pickles C, Sasieni P. Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003 Dec 6;362(9399):1871-6.

[33] Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Dalla Palma P, Del Mistro A, De Marco L, De Lillo M, Naldoni C, Pierotti P, Rizzolo R, Segnan N, Schincaglia P, Zorzi M, Confortini M, Cuzick J; New Technologies for Cervical Cancer screening Working Group. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of

women younger than 35 years: results at recruitment for a randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2006 Jul;7(7):547-55.

[34] Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, Ratnam S, Coutlée F, Franco EL; Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007 Oct 18;357(16):1579-88.

[35] Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, Dillner J, Meijer CJ. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine* 2008 Aug 19;26(10):K29-41.

[36] Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Coupe VM, Hesselink AT, Rozendaal L, Heideman DA, Verheijen RH, Bulk S, Verweij WM, Snijders PJ, Meijer CJ. Evaluation of 14 triage strategies for HPV DNA-positive women in population-based cervical screening. *Int J Cancer* 2012 Feb 1;130(3):602-10.

[37] Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH, Liaw KL, Barr E. Incidence and duration of cervical human papillomavirus 6, 11, 16, and 18 infections in young women: an evaluation from multiple analytic perspectives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007 Apr;16(4):709-15.

[38] Elfgrén K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2002 Nov;100(5 Pt 1):965-71.

[39] Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, Rush BB, Glass AG, Schiffman M. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J Natl Cancer Inst* 2005 Jul 20;97(14):1072-9.

[40] Monsonego J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat JC, Syrjänen K, Halfon P, Ruiz F, Smith JS. Evaluation of oncogenic human papillomavirus RNA and DNA tests with liquid-based cytology in primary cervical cancer screening: the FASE study. *Int J Cancer* 2011 Aug 1;129(3):691-701. doi: 10.1002/ijc.25726.

[41] Monsonego J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat JC, Syrjänen K, Smith JS. Risk assessment and clinical impact of liquid-based cytology,

oncogenic human papillomavirus (HPV) DNA and mRNA testing in primary cervical cancer screening (the FASE study). *Gynecol Oncol* 2012 Apr;125(1):175-80.

[42] Cricca M, Venturoli S, Leo E, Costa S, Musiani M, Zerbini M. Molecular analysis of HPV 16 E61/E6II spliced mRNAs and correlation with the viral physical state and the grade of the cervical lesion. *J Med Virol* 2009 Jul; 81(7):1276-82.

[43] Saunier M, Monnier-Benoit S, Mauny F, Dalstein V, Briolat J, Riethmüller D, Kantelip B, Schwarz E, Mougin C, Prétet JL. Analysis of human papillomavirus type 16 (HPV16) DNA load and physical state for identification of HPV16-infected women with high-grade lesions or cervical carcinoma. *J Clin Microbiol* 2008 Nov;46(11):3678-85.

[44] Chen S, Yang Z, Zhang Y, Qiao Y, Cui B, Zhang Y, Kong B. Genomic amplification patterns of human telomerase RNA gene and C-MYC in liquid-based cytological specimens used for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Diagn Pathol* 2012 Apr 13;7: 40.

[45] Klaes R, Benner A, Friedrich T, Ridder R, Herrington S, Jenkins D, Kurman RJ, Schmidt D, Stoler M, von Knebel Doeberitz M. p16INK4a immunohistochemistry improves interobserver agreement in the diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2002 Nov;26(11):1389-99.

[46] Bergeron C, Ordi J, Schmidt D, Trunk MJ, Keller T, Ridder R; European CINtec Histology Study Group. Conjunctive p16INK4a testing significantly increases accuracy in diagnosing high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Clin Pathol* 2010 Mar;133(3):395-406.

[47] Von Knebel Doeberitz M, Reuschenbach M, Schmidt D, Bergeron C. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16(INK4a) to highlight transforming HPV infections. *Expert Rev Proteomics* 2012 Apr;9(2):149-63.

[48] Denton KJ, Bergeron C, Klement P, Trunk MJ, Keller T, Ridder R; European CINtec Cytology Study Group. The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology versus HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. *Am J Clin Pathol* 2010 Jul;134(1):12-21.47.

[49] Petry KU, Schmidt D, Scherbring S, Luyten A, Reinecke-Lüthge A, Bergeron C,

- Kommos F, Löning T, Ordi J, Regauer S, Ridder R. Triage Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. *Gynecol Oncol* 2011 Jun 1;121(3):505-9.
- [50] Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R; European CINTec Cytology Study Group. p16/ki-67 dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology: results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study. *Cancer Cytopathol* 2011 Jun 25;119(3):158-66.
- [51] Petry KU. HPV in screening and triage: primary HPV screening with P16/KI67 triage. A new standard is defined. *HPV Today* 2012 Mar 3:9-11
- [52] Zhao FH, Lewkowitz AK, Chen F, Lin MJ, Hu SY, Zhang X, Pan QJ, Ma JF, Niyazi M, Li CQ, Li SM, Smith JS, Belinson JL, Qiao YL, Castle PE. Pooled analysis of a self-sampling HPV DNA Test as a cervical cancer primary screening method. *J Natl Cancer Inst* 2012 Feb 8;104(3):178-88.
- [53] Dijkstra MG, Heideman DA, van Kemenade FJ, Hogewoning KJ, Hesselink AT, Verkuijden MC, van Baal WM, Boer GM, Snijders PJ, Meijer CJ. Brush-based self-sampling in combination with GP5+/6+-PCR-based HRHPV testing: high concordance with physician-taken cervical scrapes for HPV genotyping and detection of high-grade CIN. *J Clin Virol* 2012 Jun;54(2):147-51.
- [54] Boulanger JC, Dréan Y, Diouf M, Sevestre H, Gondry J. Ten-year follow-up after a negative HPV Test. *Eurogin* Lisbonne 2011.
- [55] Kjaer S, Høgdall E, Frederiksen K, Munk C, van den Brule A, Svare E, Meijer C, Lorincz A, Iftner T. The absolute risk of cervical abnormalities in high-risk human papillomavirus-positive, cytologically normal women over a 10-year period. *Cancer Res* 2006 Nov 1;66(21):10630-659.
- [56] Burger EA, Ortendahl JD, Sy S, Kristiansen IS, Kim JJ. Cost-effectiveness of cervical cancer screening with primary human papillomavirus testing in Norway. *Br J Cancer* 2012 Apr 24;106(9):1571-8.
- [57] Hendry M, Pasterfield D, Lewis R, Clements A, Damery S, Neal RD, Adke R, Weller D, Campbell C, Patrick J, Sasieni P, Hurt C, Wilson S, Wilkinson C. Are women ready for the new cervical screening protocol in England? A systematic review and qualitative synthesis of views about human papillomavirus testing. *Br J Cancer* 2012 Jul 10;107(2):243-54
- [58] De Kok IM, van Rosmalen J, Dillner J, Arbyn M, Sasieni P, Iftner T, van Ballegooijen M. Primary screening for human papillomavirus compared with cytology screening for cervical cancer in European settings: costeffectiveness analysis based on a Dutch microsimulation model. *BMJ* 2012 Mar 5;344:e670.
- [59] Patel A, Galaal K, Burnley C, Faulkner K, Martin-Hirsch P, Bland MJ, Leeson S, Beer H, Paranjothy S, Sasieni P, Naik R. Cervical cancer incidence in young women: a historical and geographic controlled UK regional population study. *Br J Cancer* 012 May 22;106(11):1753-9
- [60] Du J, Ramqvist T, Dalianis T. The high prevalence of HPV 16 in the genital tract of 15-23 year old women at a youth clinic in Stockholm emphasizes the urgency of vaccination. *HPV Today* 2012 Mar 25:6-7.
- [61] Bergeron C, Schmidt D, Ikengerg H, Ruediger R. High sensitivity of P16/Ki 67 Dual-Stained cytology for High Grade CIN. Results from screening and Triage trials in over 28000 women. American Society of Cytopathology. 58th annual meeting. Platform and Poster presentations. Published online in Wiley Online Library(<http://www.wileyonlinelibrary.com>)
- [62] Zhao C, Elishaev E, Yuan KH, Yu J, Austin RM. Very low human Papillomavirus DNA prevalence in mature women with negative computer-imaged liquid-based Pap tests. *Cancer* 2007 Oct 25;111(5):292-7.
- [63] Sasieni P, Castanon A, Parkin DM. How many cervical cancers are prevented by treatment of screen-detected disease in young women? *Int J Cancer* 2009 Jan 15;124(2):461-4.
- [64] Petersen O. Spontaneous course of cervical precancerous conditions. *Am J Obstet Gynecol* 1956 Nov;72(5):1063-71.
- [65] Clemmesen J, Poulsen H. Report of Ministry of the Interior. 1971 Document 3. Copenhagen.
- [66] Lange P. *Acta Pathol Microbiol Scand Supp* 1960;50,143:1-79.
- [67] Gad C. The management and natural history of severe dysplasia and carcinoma in situ of the uterine cervix. *Br J Obstet Gynaecol* 1976 Jul;83(7):554-9.
- [68] Stern E, Neely PM. Dysplasia of the uterine cervix, incidence of regression, recur-

rence, and cancer. *Cancer* 1964 Apr;17:508-12.

[69] Kottmeier HL. Carcinoma of the female genitalia. Abraham Flexner Lecturer, Series Number Eleven Williams and Wilkins Co, Baltimore 1953.

[70] Briggs RM. Dysplasia and early neoplasia of the uterine cervix. A review. *Obstet Gynecol Surv* 1979 Jan;34(1):70-99.

[71] McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, Baranyai J, Medley G, Jones RW, Skegg DC. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intra-epithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008 May;9(5):425-34.

[72] Wheeler CM. HPV genotypes: implications for worldwide cervical cancer screening and vaccination. *Lancet Oncol* 2010 Nov;11(11):1013-4.

[73] Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003 Feb 6;348(6):518-27.

[74] Prétet JL, Jacquard AC, Carcopino X, Charlot JF, Bouhour D, Kantelip B, Soubeyrand B, Leocmach Y, Mouglin C, Riethmuller D. EDITH study group. Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in invasive cervical

cancers in France: EDITH study. *Int J Cancer* 2008;15;122(2):428-32.

[75] Powell NG, Hibbitts SJ, Boyde AM, Newcombe RG, Tristram AJ, Fiander AN. The risk of cervical cancer associated with specific types of human papillomavirus: a case-control study in a UK population. *Int J Cancer* 2011 Apr 1;128(7):1676-82.

[76] Kim JW, Song SH, Jin CH, Lee JK, Lee NW, Lee KW. Factors affecting the clearance of high-risk human papillomavirus infection and the progression of cervical intraepithelial neoplasia. *J Int Med Res* 2012;40(2):486-96.

[77] Gravitt PE, Kovacic MB, Herrero R, Schiffman M, Bratti C, Hildesheim A, Morales J, Alfaro M, Sherman ME, Wacholder S, Rodriguez AC, Burk RD. High load for most high risk human papillomavirus genotypes is associated with prevalent cervical cancer precursors but only HPV16 load predicts the development of incident disease. *Int J Cancer* 2007 Dec 15;121(12):2787-93.43.

[78] Franco EL, Cuzick J. Cervical cancer screening following prophylactic human papillomavirus vaccination. *Vaccine* 2008 Mar 14;26(1):A16-23. Review.

[79] Riethmuller D, Ramanah R, Carcopino X, Lévêque J. La surveillance des femmes vaccinées. Mises à jour en *Gynecol Obstet* 2011:703-720.

