

*COLLÈGE NATIONAL  
DES GYNÉCOLOGUES ET OBSTÉTRICIENS FRANÇAIS  
Président : Professeur B. Hédon*

Sixième partie  
**Colposcopie**



*38<sup>es</sup> JOURNÉES NATIONALES  
Paris, 2014*

# Critères de qualité d'un « bon » test HPV ?

J.L. PRÉTET <sup>1, 2, 3</sup> \*, D. GUENAT <sup>1, 2, 3</sup>, D. RIETHMULLER <sup>1, 2, 3</sup>,  
C. MOUGIN <sup>1, 2, 3</sup>  
(Besançon)

## Résumé

*Depuis plusieurs années, on note un intérêt croissant pour la détection des papillomavirus humains (HPV) dans le dépistage et la prise en charge des lésions précancéreuses et des cancers liés à ces virus. Par ailleurs, de très nombreux tests de diagnostic ont été développés et commercialisés. Si les HPV constituent un biomarqueur robuste, la définition des performances analytiques et cliniques (ex. sensibilité et spécificité) des trousse disponibles est essentielle pour avoir un « bon » test HPV. Au-delà de l'analyse, la raison de la prescription de l'analyse, la qualité du prélèvement, de son stockage et de son acheminement au laboratoire, l'expertise du laboratoire effectuant l'analyse sont autant de critères à prendre en compte pour obtenir un test HPV de qualité. Des recommandations relatives aux performances des trousse existent, des procédures décrivant les différentes phases analytiques assurent la maîtrise de l'analyse,*

1 - Université Franche-Comté - 25000 Besançon

2 - CHU de Besançon - 2 place Saint-Jacques - 25000 Besançon

3 - EA3181 - SFR FED4234 - CIC-BT (Inserm CBT 506) - Labex LipSTIC ANR-11-LABX-0021 - 25000 Besançon

\* Correspondant : jean\_luc.pretet@univ-fcomte.fr

*enfin des procédures réglementaires engagent la responsabilité de l'ensemble des personnes impliquées dans la réalisation d'un test HPV. Ces différents points sont discutés dans cet article.*

*Mots clés : sensibilité et spécificité analytiques et cliniques, dépistage, diagnostic, cancer du col de l'utérus*

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

- Jean-Luc Prétet déclare avoir un intérêt en relation avec le sujet présenté sous forme d'étude clinico-biologique pour Novacyt.
- Didier Riethmuller déclare avoir un intérêt en relation avec le sujet présenté en qualité d'orateur occasionnel pour Qiagen.
- David Guenat et Christiane Mougin 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**

Depuis la reconnaissance des papillomavirus humains haut risque (HPV HR) comme agents étiologiques du cancer du col de l'utérus [1], de nouvelles stratégies de dépistage des lésions (pré)cancéreuses basées sur la détection des génomes viraux ont été proposées. Ces stratégies ont démontré, dans de grands essais cliniques [2-4] mais aussi en population générale ou hospitalière [5, 6], une excellente sensibilité clinique permettant de pallier les limites imposées par l'analyse cytologique des frottis cervico-utérins. En France, la recherche d'ADN d'HPV est remboursée pour le triage des ASC-US ; elle est recommandée par le Collège national des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF) dans le suivi des lésions intraépithéliales de haut

CRITÈRES DE QUALITÉ D'UN « BON » TEST HPV ?

grade traitées [7], elle trouvera vraisemblablement sa place pour le dépistage chez les femmes vaccinées [8] et son utilisation en dépistage primaire devient envisageable [9, 10]. L'intérêt croissant, depuis une décennie, pour la recherche d'HPV en pratique clinique a contribué au développement de nombreux tests moléculaires par les compagnies de diagnostic. Ce sont plus de trente trousseaux commerciaux qui sont désormais disponibles sur le marché (Tableau).

Tableau - Trousseaux commerciaux disponibles pour la détection des HPV

Nom du test	Firme	Caractéristique	Sensibilité (copies/réaction)	HPV détectés
<b>Tests de détection groupés</b>				
<b>Test ADN</b>				
<i>Digene HC2 High-Risk HPV DNA Test</i>	Qiagen	Hybridation liquide génome entier	5 000	HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
<i>Hybride Capnare 2</i>	Qiagen	Hybridation liquide génome entier	5 000	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 HPV6, 11, 42, 43, 44
<i>careHPV</i>	Qiagen	Hybridation liquide génome entier	nd	HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
<i>Cervista HR HPV</i>	Hologic	Invader®	1 250-2 500	HPV16,18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
<i>Amplicor HPV Test</i>	Roche Diagnostics	PCR L1 hybridation sur plaque	10	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
<i>Dx HR-HPV Auto Assay</i>	Bio Rad	PCR TR multiplex	90-2 000	HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
<i>BioPAP Kit</i>	Bioteools	PCR - électrophorèse	Nd	HPV6, 11, 13, 16, 18, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69
<b>Test ARN</b>				
<i>PreTect HPV Proofer®</i>	Norchip	NASBA	200-40 000/mL	HPV 16, 18, 31, 33, 45
<i>Nuclisens EasyQ HPV</i>	Biomérieux	NASBA	200-40 000/mL	HPV 16, 18, 31, 33, 45
<i>APTIMA HPV Test</i>	GenProbe/Hologic	<i>Transcription Mediated Amplification</i>	20-500	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68
<i>HPV OncoTect</i>	Invivion InCellDx	Hybridation <i>in situ</i> /cytométrie en flux	nd	Non indiqué
<b>Tests de génotypage partiel (dont HPV16 et HPV18)</b>				
<i>cobas®4800 HPV Test</i>	Roche Diagnostics	PCR-TR	40	HPV16 HPV18 HPV31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68
<i>Real Time HR HPV</i>	Abott	PCR-TR	500	HPV16 HPV18 HPV31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68
<i>HPV-Easy-screening Kit</i>	AID GmbH	Bandelette	1000	HPV16 HPV18 HPV18R
<i>GenoID Real-Time HPV assay®</i>	GenoID	PCR-TR	100-700	HPV 16, 18 HPV 31/33/45/52/58 HPV 35/39/51/56/59/66/68
<i>Xpert® HPV</i>	Cepheid	PCR-TR	nd	HPV16 HPV18/45 HPV 31/33/35/52/58 HPV 39/56/66/68 HPV 51/59
<i>Digene HPV Genotyping PS Test</i>	Qiagen	Hybridation liquide génome entier	5000	HPV16, 18, 45

Tableau - suite

Tests de génotypage complet					
<i>INNOLiPA Genotyping Extra</i>	Fujirebio	Hybridation inverse sur bandelette	2-5000	HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 6, 11, 40, 43, 44, 54, 70, 69, 71, 74	
<i>Linear Array</i>	Roche Diagnostics	Hybridation inverse sur bandelette	20	HPV6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM8), IS39, and CP6108	
<i>Papillocheck</i>	Greiner Bio-one	Hybridation inverse sur puce	50	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82	
<i>CLART HPV2</i>	Genomica	Hybridation inverse sur puce	10	HPV 6, 11, 32, 40, 42, 44, 54, 55, 61, 62, 64, 71, 72, 74, 81, 83, 84, 87, 89, 91, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, 85	
<i>Digene HPV Genotyping RH Test</i>	Qiagen	Hybridation inverse sur bandelette	4	HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82	
<i>Digene HPV Genotyping LQ Test</i>	Qiagen	Luminex	5	HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82	
<i>Pap Type</i>	Genera Biosystems	Microbilles fluorescentes	500	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 6, 11	
<i>ProDec@Chip HPV Typing</i>	Bcs Biotech	Hybridation inverse sur puce	600	HPV 6, 11, 42, 43, 44, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73	
<i>BioPAP-QTS kit</i>	Biotools B&M Labs	PCR TR	nd	HPV 6, 11, 13, 16, 18, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69	
<i>Human Papillomavirus PCR Typing/detection Set</i>	Takara	Hybridation/Digestion enzymatique	nd	HPV 16, 18, 33, 52b, 58, 6, 11	
<i>HPV DNA Chip</i>	Biomedab Co., Ltd.	Hybridation inverse sur puce	nd	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44	
<i>Anyplex™ II HPV28 Detection</i>	Seegene	PCR TR (technologie TOCE™)	50	HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73, 82, 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70	
<i>LCD-Array HPV Type 3.5 C</i>	Chipron	Hybridation inverse sur puce	nd	HPV 6, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 66, 68, 70	
<i>Multiplex HPV Genotyping Kit</i>	Mikrogen Diagnostik	Luminex	nd	HPV 6, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82, 26, 53, 6, 11, 42, 43, 44, 70	
<i>HPV-Typing Kit</i>	AID GmBH	Bandelette	nd	HPV 6, 11, 16, 18, 45 HPV31/33/35/39 HPV51/52/53/56/59	
<i>BioTYPAP Kit</i>	Biotools	PCR RFLP	nd	HPV 6, 11, 13, 16, 18, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69	
Autres types de tests					
<i>HPV Family Probe</i>	Ventana	Hybridation <i>in situ</i>	nd	HPV 6, 11 HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 66	
<i>Zytofast® HPV Probes</i>	ZytoVision	Hybridation <i>in situ</i>	nd	HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 82	
<i>VIRO-safe® HPV screening KIT</i>	Virofem	Détection de la protéine L1	nd	nd	
<i>OncoE6™ Cervical Test</i>	Arbor Vita	Détection de la protéine E6	nd	HPV16, 18	

nd : non disponible. Pour les tests de génotypage partiel et de génotypage complet, les génotypes d'HPV séparés par / sont détectés en commun.

## I. PRINCIPE DES TESTS HPV

Dans le cadre du dépistage, la détection de l'ADN des HPV (et plus récemment des ARN viraux) est réalisée soit à partir de frottis cervico-utérins dédiés déposés dans un milieu de recueil de cellules spécifique, soit à partir d'une fraction des cellules prélevées dans un milieu de cytologie liquide. Les techniques de biologie moléculaire mises ensuite en œuvre reposent sur la détection de séquences virales

cibles correspondant à tout ou partie du génome des HPV HR, soit par hybridation à l'aide de sondes spécifiques et détection des hybrides, soit par amplification par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) à l'aide d'amorces spécifiques des HPV.

Les différents tests HPV disponibles sont caractérisés par :

- **le spectre des HPV détectés** : certains tests détectent (i) les HPV bas risque (BR), associés préférentiellement aux lésions à type de condylomes externes [11], (ii) les HPV HR associés aux lésions précancéreuses et aux cancers du col de l'utérus [12, 13] ou (iii) les HPVHR et BR ;
- **les formats de détection** : les HPV haut risque ou bas risque peuvent être détectés (i) de façon combinée sans précision du ou des génotypes présents en distinguant tout de même les HPV HR et les HPV BR ; (ii) de façon combinée pour les principaux HPV HR avec une identification spécifique des HPV16, 18 et parfois 45, il s'agit de trousse dites de génotypage partiel ; (iii) de façon spécifique, on parle alors de génotypage complet. Dans ce dernier cas, le nombre de génotypes identifiés est variable d'une trousse à l'autre (jusqu'à 42) ;
- **la nature de la cible recherchée** : si la plupart des tests cible l'ADN viral (c'est-à-dire le génome du virus), des tests plus récents détectent certains ARN viraux qui codent notamment les oncogènes. Il est à noter que la proportion d'échantillons positifs pour les ARN d'HPV est inférieure à la proportion de ceux positifs pour l'ADN d'HPV. Ainsi, la détection des ARN présente une meilleure spécificité pour la détection des lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus par rapport à la détection de l'ADN viral [14, 15] ;
- **leur méthode de détection/amplification/révélation** : typiquement, certaines trousse basées sur l'hybridation liquide utilisent une amplification de signal (trousse *Hybrid Capture 2* (hc2) par exemple) alors que d'autres utilisent une amplification de la cible, c'est le cas des trousse basées sur la PCR. Il existe aussi des approches basées sur l'hybridation *in situ*. Elles ont l'intérêt de conserver la morphologie des tissus et donc de donner un résultat que l'on peut confronter à la présence de lésions histologiques. La stratégie de révélation des cibles d'intérêt conditionne les performances des tests. Par exemple ceux basés sur une hybridation liquide présentent une sensibilité analytique moins bonne que ceux basés sur une PCR. Les techniques d'hybridation *in situ* sont quant à elles peu sensibles et non recommandées pour du dépistage.

## II. PERFORMANCES DES TESTS HPV

### II.1 Performances analytiques

Par performances analytiques, il faut entendre capacités du test à détecter la cible recherchée avec une sensibilité et une spécificité optimales.

Au regard des spécifications techniques communes (STC) des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, la sensibilité analytique correspond à la plus petite quantité de cible (l'ADN ou les ARN des HPV dans notre cas) qui peut être détectée. Ainsi, plus une technique est sensible et plus elle sera à même de détecter de très faibles quantités d'HPV. La sensibilité est évaluée en réalisant le test à partir de solutions de la cible de plus en plus diluées. La dernière dilution donnant de façon répétable un résultat positif détermine la sensibilité qui est normalement indiquée par le fournisseur dans la notice du test. Toutefois, cette sensibilité peut varier, notamment en fonction de la nature du prélèvement (frottis, biopsie), de la qualité du prélèvement ou encore des conditions de stockage du prélèvement avant analyse.

La spécificité analytique est la capacité du test à ne détecter que la cible recherchée. La spécificité est déterminée de façon empirique. Des échantillons abritant un ou des HPV ciblés par le test doivent conduire à un résultat positif alors que des échantillons n'abritant pas ou abritant des HPV non ciblés par le test doivent conduire à un résultat négatif. Compte tenu de la forte identité de séquences entre certains types d'HPV [16], il peut exister des réactions croisées et la présence d'HPV non ciblés peuvent conduire à un résultat positif. La spécificité doit aussi être indiquée par le fournisseur et il est essentiel d'avoir connaissance de celle-ci pour interpréter correctement le test.

### II.2 Performances cliniques

Les performances cliniques correspondent à la capacité d'un test à identifier, dans un groupe de sujets, ceux atteints d'une maladie avec la meilleure sensibilité et la meilleure spécificité.

La « sensibilité clinique », qui est aussi appelée « sensibilité diagnostique » correspond à la probabilité qu'un test donne un résultat positif (présence d'HPV) chez des patientes présentant une lésion précancéreuse ou un cancer du col de l'utérus. Dans le cadre du

dépistage, les tests de détection des HPV doivent avoir une sensibilité clinique maximale de façon à identifier toutes les patientes avec une lésion. Le corollaire d'une forte sensibilité clinique est une excellente valeur prédictive négative qui permet de rassurer les patientes présentant un test négatif.

La spécificité clinique/diagnostique correspond à la probabilité que le test soit négatif chez des femmes sans lésion. Dans le cadre du dépistage, un test présentant une trop faible spécificité clinique (le test est positif alors que la patiente n'a pas de lésion) risque d'induire des investigations cliniques et des coûts inutiles, tout en inquiétant inutilement la patiente.

### III. QU'EST-CE QU'UN « BON » TEST HPV ?

D'un point de vue pratique, un bon test HPV est un test apportant au clinicien une information qui, selon le contexte clinique de la patiente, lui permettra d'adapter sa prise en charge en fonction du résultat. C'est pourquoi il est essentiel que le clinicien définisse et formalise ses besoins. Par exemple, la prescription est-elle indiquée pour du dépistage, pour un diagnostic virologique, chez une jeune femme vaccinée ?

Pour le biologiste, la réalisation d'un test HPV se décline en trois phases dites pré-analytique, analytique et post-analytique. Si les phases analytique (l'analyse en elle-même) et post-analytique (validation, édition et transmission des résultats, gestion des prélèvements et des déchets...) dépendent essentiellement du biologiste, la phase pré-analytique est assumée en partie par le clinicien qui effectue le prélèvement. En effet, sans un bon prélèvement, difficile d'avoir un bon test HPV. C'est pourquoi des recommandations sur les conditions de prélèvement, de stockage et de transports des échantillons doivent être fournies au clinicien pour que ceux-ci soient conformes pour la recherche d'HPV.

#### III.1 Qualité du prélèvement

Le recueil de cellules du col de l'utérus en vue d'une recherche d'HPV peut se réaliser soit à l'aide d'un dispositif dédié au test moléculaire, soit à l'aide d'un dispositif dédié initialement à la cytologie

en couche mince. Dans les deux cas, le clinicien utilisera une cyto-brosse qui sera ensuite plongée dans un milieu de conservation.

### ***III.1.a. Cas des dispositifs dédiés aux tests moléculaires***

Ces dispositifs ont pour seul objectif de permettre le recueil de cellules en vue d'une analyse moléculaire pour la recherche d'ADN ou d'ARN d'HPV. Les milieux disponibles qui assurent une bonne conservation des acides nucléiques ont été développés par des sociétés de diagnostic de façon à ce qu'ils soient adaptés à la trousse de détection des HPV qu'elles commercialisent. D'une façon générale, il n'est pas souhaitable d'utiliser un milieu de conservation des cellules développé par une société avec une trousse de détection des HPV d'une autre compagnie, au risque de biaiser les résultats. Le principal intérêt des prélèvements dédiés réside dans le fait que la totalité de l'échantillon sert à l'analyse moléculaire, ce qui limite les risques de contamination ou de faible représentativité de l'échantillon. Dans le cadre du dépistage, cette option souffre toutefois du fait que le clinicien doit attendre le résultat de la cytologie pour reconvoquer les patientes avec un frottis ASC-US et effectuer un prélèvement pour la recherche d'HPV. La recommandation d'un dépistage combiné par cytologie et test HPV, comme cela se fait dans certains pays et à l'Hôpital américain, lève *de facto* cette difficulté.

### ***III.1.b. Cas des dispositifs dédiés à la cytologie en couche mince***

L'avènement de la cytologie en couche mince a permis de proposer un test HPV réflexe à partir de la fraction non utilisée du frottis ayant servi à l'analyse cytologique. L'avantage de cette approche est que la patiente n'a pas besoin d'être reconvoquée si le frottis présente des atypies cellulaires de signification indéterminée. En effet, le pathologiste pourra d'emblée envoyer la fraction non utilisée du frottis pour une recherche d'HPV HR. En revanche, dans la mesure où le milieu de conservation des cellules a été développé pour préserver la morphologie des cellules, il ne permet pas forcément une bonne conservation des acides nucléiques, ce qui peut remettre en cause la faisabilité d'un test HPV. La compatibilité entre milieu de cytologie en couche mince et test HPV doit être clairement signifiée dans la notice technique du test HPV ou du milieu de recueil des cellules. En France, de nombreux milieux de cytologie en couche mince sont disponibles, mais ils ne sont pas tous compatibles pour la réalisation d'un test HPV. À ce titre, l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) peut diligenter des inspections pour vérifier l'adéquation entre les milieux commercialisés et les tests HPV. Si des

anomalies sont constatées, elle peut décider de suspendre la mise sur le marché, la mise en service, l'exportation, la distribution et l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* jusqu'à leur mise en conformité. Cela peut aussi conduire au retrait du dispositif.

Que ce soit pour les milieux dédiés ou pour les milieux de cytologie en couche mince, les recommandations en termes de stockage (délai et température) et d'envoi des échantillons doivent être absolument respectées de façon à fournir au biologiste un prélèvement dont la qualité lui permettra d'effectuer un test HPV. Si ces conditions ne sont pas respectées, le prélèvement pourra être rejeté par le biologiste qui ne prendra pas la responsabilité de réaliser un test HPV sur un prélèvement non conforme. Une liste des principaux milieux disponibles pour effectuer un test HPV a été publiée en juin 2012 dans une note de cadrage de la Haute Autorité de santé (HAS) relative aux « conditions de réalisation de la détection des papillomavirus humains (HPV) ».

### III.2. Test de dépistage

Pour une détection optimale des lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus, les tests HPV doivent présenter la meilleure balance sensibilité clinique/spécificité clinique pour identifier les infections associées à un risque de lésions prévalentes ou incidentes. Les critères de qualité pour un « bon » test de dépistage ont été définis par un groupe d'experts et publiés en 2009 [17]. Les performances minimales cliniques d'un test HPV et les méthodes pour évaluer ces performances sont résumées ci-dessous :

- **la sensibilité clinique** pour dépister les CIN2+ doit être au minimum de 90 % de celle du test *Hybrid Capture 2* (hc2) qui atteint 94,6 % à 97,7. La sensibilité est évaluée en analysant au moins 60 prélèvements déjà analysés par un test validé et associés à un diagnostic histologique de CIN2+ ;
- **la spécificité clinique** pour dépister les CIN2+ doit être au minimum de 98 % de celle du test hc2 qui atteint 90,7 % à 94,1 %. La spécificité est évaluée en testant 800 prélèvements déjà analysés par un test validé et ne présentant pas de diagnostic histologique de CIN2+ ;
- **la reproductibilité intra- et interlaboratoire** doit être évaluée sur 500 prélèvements dont un tiers doit être HPV positif. Le pourcentage d'agrément pour les reproductibilités doit être au minimum de 87 %.

D'un point de vue pratique, les performances des troupes de détection des HPV commercialisées doivent avoir été validées par des études cliniques et doivent être indiquées dans les notices. Parmi les troupes disponibles, ce sont les troupes de détection globale des HPV HR et certaines troupes de génotypage partiel qui présentent les meilleures performances cliniques.

### III.3. Test de diagnostic virologique

L'objectif d'un test de diagnostic virologique est de déterminer si un échantillon est infecté ou non par un HPV et le cas échéant de déterminer le(s) génotype(s), y compris lorsque le virus est en très faible quantité. Les tests de diagnostic doivent donc avoir une sensibilité analytique et une spécificité analytique maximales. Les tests de diagnostic sont intéressants à plusieurs égards :

- **pour le triage secondaire** après un test de dépistage positif. En effet, des études ont récemment démontré que la détection spécifique et séparée des HPV16 et des HPV18, en plus des HPV HR, constitue une option de dépistage des lésions (pré)cancéreuses plus efficace que les stratégies basées sur la cytologie [18]. À ce titre, l'*American Cancer Society* (ACS), l'*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology* (ASCCP) et l'*American Society for Clinical Pathology* (ASCP) recommandent que les patientes de plus de trente ans avec un frottis normal HPV16 et/ou 18 positif soient référées directement en colposcopie alors que celles infectées par un autre HPV HR soient revues à 12 mois [19]. Une prise en charge différente en fonction du génotype d'HPV détecté n'a pas encore fait l'objet de recommandations en France ;
- **pour la surveillance des femmes vaccinées** et la mise en évidence d'un éventuel échec de la vaccination ;
- **pour la réalisation d'études d'épidémiologie moléculaire** dont l'objectif est de décrire la distribution des types d'HPV dans des populations sélectionnées ou non.

Les meilleurs tests pour poser un diagnostic sont très certainement les tests de génotypage complet basés sur des techniques d'amplification de cible qui permettent grâce à leur excellente sensibilité analytique et à la possibilité de multiplexage (ciblage simultané de plusieurs HPV) la détection de très nombreux génotypes d'HPV HR et BR. Toutefois, si la comparaison des résultats de génotypage obtenus

par différentes trousse est globalement satisfaisante, en particulier pour la détection des HPV16 et 18, des discordances peuvent être observées sur certains génotypes, notamment lors d'infections multiples [20]. Ces discordances illustrent les différences de performances analytiques de chaque trousse et le clinicien doit toujours rester critique face à un résultat de génotypage.

## IV. QUALITÉ RÉGLEMENTAIRE DES TROUSSES DE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Afin de garantir la qualité des trousse de diagnostic *in vitro* commercialisées, il existe des procédures réglementaires de vérification de leurs performances dont les modalités varient en fonction des zones géographiques.

### IV.1. Marquage CE IVD

Le marquage CE, appliqué aux dispositifs de diagnostic *in vitro* (CE IVD), est nécessaire pour qu'un dispositif de diagnostic *in vitro* soit commercialisé dans l'espace économique européen. Ce marquage est obtenu après vérification par le fabricant ou l'importateur des procédures de conception et de fabrication du dispositif selon les exigences essentielles de sécurité et de santé (EESS) définies dans la directive 98/79/CE du Parlement européen. En particulier, une analyse de risque est requise dont les résultats doivent être notifiés dans le dossier technique. La vérification des procédures peut être effectuée par le fabricant lui-même ou par un organisme tiers. Une fois le dossier validé, le marquage peut être apposé sur le produit, ce qui engage la responsabilité du fabricant sur l'ensemble des aspects relatifs au dispositif. Si les autorités compétentes, l'ANSM en particulier, n'interviennent pas directement dans le processus de marquage, elles peuvent à tout moment réaliser un audit de la société fabricant le dispositif et, après analyse du dossier technique, établir des non-conformités qui devront être levées dans un délai défini voire faire retirer le produit du marché si les exigences ne sont pas remplies.

## IV.2. Marquage « FDA »

La mise sur le marché d'un dispositif de diagnostic *in vitro* aux États-Unis nécessite une approbation par la FDA (*Food & Drug Administration*) qui assure l'innocuité et l'efficacité du dispositif. Cette approbation est obtenue après avoir notamment fait la preuve de l'originalité, des performances analytiques et cliniques du test de diagnostic *in vitro*. Cette approbation nécessite généralement la mise en place d'études cliniques dont les résultats alimenteront le dossier de demande d'approbation.

## V. QUALITÉ DES LABORATOIRES RÉALISANT LES TESTS HPV

Après la publication de la loi Hôpital, patients, santé et territoires en juillet 2009 et de l'ordonnance d'application relative à la biologie médicale en janvier 2010, il est indiqué qu'« un laboratoire de biologie médicale ne peut réaliser d'examen de biologie médicale sans accréditation ». Le référentiel utilisé pour l'accréditation est la norme ISO 15189 qui stipule que tout laboratoire doit apporter la preuve de la maîtrise de l'ensemble des processus mis en œuvre pour réaliser une analyse de biologie et rendre un résultat de qualité aux prescripteurs. L'accréditation qui fait suite à un audit sur site du système de management de la qualité et de la maîtrise des trois phases analytiques est délivrée par un organisme indépendant, le COFRAC. D'ici 2020, tout laboratoire réalisant des examens de biologie médicale devra être accrédité, ce qui aura pour conséquence d'améliorer encore la fiabilité des tests HPV.

## CONCLUSION

Les critères de qualité d'un « bon » test HPV se définissent donc à plusieurs niveaux. (i) Au niveau du prélèvement qui doit être réalisé, stocké et acheminé selon les recommandations des bonnes pratiques cliniques et biologiques. (ii) Au niveau des performances analytiques qui conditionnent directement la capacité du test à détecter de façon

sensible et spécifique le ou les HPV souhaités. (iii) Au niveau des performances cliniques, notamment dans le contexte du dépistage des lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus, car le test HPV doit avoir une sensibilité optimale pour identifier toutes les femmes à risque de lésion prévalente ou incidente. (iv) Enfin, au niveau du biologiste qui doit maîtriser toutes les étapes de l'analyse.

## Bibliographie

[1] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189:12-9.

[2] Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A *et al.* Human papillomavirus DNA *versus* Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007;357:1579-88.

[3] Naucler P, Ryd W, Tornberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K *et al.* Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007;357:1589-97.

[4] 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;11:249-57.

[5] Dalstein V, Riethmuller D, Sautiere JL, Pretet JL, Kantelip B, Schaal JP *et al.* Detection of cervical precancer and cancer in a hospital population; benefits of testing for human papillomavirus. *Eur J Cancer* 2004;40:1225-32.

[6] Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C *et al.* Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. *BMJ* 2008;337:a1754.

[7] Mergui JL, Polena V, David-Montefiore E, Uzan S. Guidelines for the follow-up of women treated for high-grade cervical neoplasia. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2008;37 Suppl 1:S121-30.

[8] Riethmuller D, Ramanah R, Carcopino X, Leveque J. The follow-up of the women vaccinated against HPV. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2013 Oct;42(6):525-33.

- [9] Lavoué V, Bergeron C, Riethmuller D, Daraï E, Mergui JL, Baldauf JJ *et al.* Cervical screening: towards a new paradigm? *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2010;39:102-15.
- [10] Riethmuller D, Ramanah R, Pretet JL, Mougin C. [Integrating HPV testing for primary screening?]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2008;37(Suppl 1):S139-51.
- [11] Aubin F, Prétet JL, Jacquard AC, Saunier M, Carcopino X, Jaroud F *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in external acuminata condylomata: a Large French National Study (EDiTH IV). *Clin Infect Dis* 2008;47:610-5.
- [12] Prétet JL, Jacquard AC, Carcopino X, Charlot JF, Bouhour D, Kantelip B *et al.* Human papillomavirus (HPV) genotype distribution in invasive cervical cancers in France: EDITH study. *Int J Cancer* 2008;122:428-32.
- [13] Prétet JL, Jacquard AC, Carcopino X, Monnier-Benoit S, Averous G, Soubeyrand B *et al.* Human papillomavirus genotype distribution in high grade cervical lesions (CIN 2/3) in France: EDITH study. *Int J Cancer* 2008;122:424-7.
- [14] Molden T, Nygard JF, Kraus I, Karlsen F, Nygard M, Skare GB *et al.* Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-proofer and consensus PCR: a 2-year follow-up of women with ASCUS or LSIL Pap smear. *Int J Cancer* 2005;114:973-6.
- [15] Monsonogo J, Hudgens MG, Zerat L, Zerat JC, Syrjanen K, Halfon P *et al.* 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;129:691-701.
- [16] Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 2010;401:70-9.
- [17] 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;124:516-20.
- [18] 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;12:880-90.
- [19] Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J *et al.* 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;137:516-42.
- [20] Castle PE, Porras C, Quint WG, Rodriguez AC, Schiffman M, Gravitt PE *et al.* Comparison of two PCR-based human papillomavirus genotyping methods. *J Clin Microbiol* 2008;46:3437-45.