

Article original

Évaluation des performances de trois techniques de détection et de typage des papillomavirus humains : Hybrid Capture[®] 2, HPV Consensus kit[®] et Amplicor HPV[®]

Evaluation of accuracy of three assays for human papillomavirus detection and typing: Hybrid Capture[®] 2, HPV Consensus kit[®] and Amplicor HPV[®]

S. Hantz^a, H. Caly^b, E. Decroisette^b, A. Dutrop^a, D. Bakeland^c, B. Pascal^d, G. Darre^e, C. Dussartre^e, J. Renaudie^f, S. Rogez^a, Y. Aubard^b, F. Denis^a, S. Alain^{a,*}

^aLaboratoire de bactériologie-virologie-hygiène, CHRU Dupuytren, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges cedex, France

^bService de gynécologie-obstétrique, CHRU Dupuytren, 2, avenue Martin-Luther-King, 87042 Limoges cedex, France

^cCabinet d'anatomie et de cytologie pathologiques, 3, avenue Pierre-Mendès, 23000 Guéret, France

^dCabinet d'anatomie et de cytologie pathologiques, 14, rue Deverrine, 87000 Limoges, France

^eCabinet d'anatomie et de cytologie pathologiques, 16, rue Léon-Sazerat, 87000 Limoges, France

^fService de gynécologie-obstétrique, clinique du Colombier, 92, avenue Albert-Thomas, 87100 Limoges, France

Reçu le 9 août 2006 ; accepté le 19 septembre 2007

Disponible sur Internet le 4 janvier 2008

Résumé

But de l'étude. – La détection des papillomavirus humains (HPV) à haut risque oncogène est devenue un complément indispensable du dépistage par frottis cervicovaginal pour les lésions de type ASCUS. La trousse Hybrid Capture[®] 2 (HC2, Digene) a montré son efficacité depuis plusieurs années dans ces indications. Nous avons donc souhaité la comparer à deux techniques de détection par PCR-hybridation : HPV Consensus kit[®] (HPVC, Argène), non commercialisée et Amplicor HPV test[®] (AHPV, RocheDiagnostics), disponible en routine.

Matériel et méthodes. – Les échantillons cervicaux de 88 patientes ont été testés en parallèle par les trois techniques. Les résultats de l'ensemble des échantillons ont été confirmés par PCR nichée et séquençage des produits amplifiés.

Résultats. – Parmi les 88 échantillons, seuls 86 résultats étaient comparables. L'analyse de ces résultats a montré les performances assez proches des techniques HC2 et AHPV. Malgré la sensibilité de la méthode HPVC, 13 échantillons n'ont pu être classés en haut ou bas risque par cette technique (résultats « générique ») et ont donc dû être écartés pour calculer les performances de la technique.

Conclusion. – Malgré une sélection d'échantillons présentant souvent une faible charge virale et/ou des discordances cytovirologiques, nos résultats tendent à montrer une bonne sensibilité de détection de l'infection à HPV aussi bien par les techniques d'amplification du signal (HC2) que par les techniques d'amplification de la cible (HPVC et AHPV). Cependant, une étude complémentaire sur un panel plus large de patientes avec un diagnostic cytologique d'ASCUS et une biopsie sous colposcopie permettrait de valider ces techniques pour une indication clinique.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Background. – Detection of high-risk human papillomavirus has proved its usefulness in complement of abnormal cervical scrape result. The Hybrid Capture[®] 2 (HC2, Digene) test has proven its efficiency. We have compared this test with HPV Consensus kit[®] (HPVC, Argène) and Amplicor HPV test[®] (AHPV, RocheDiagnostics) on a panel of 88 samples with low HC2 ratios or discordant results between HC2 and cervical scrape.

Material and methods. – Cervical samples were tested in parallel by the three methods using a nested amplification of L1 region as reference.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : sophie.alain@unilim.fr (S. Alain).

Results. – Eighty-six samples were suitable for analysis. Results of HC2 and AHPV tests were closely related. The use of a “generic” probe in the HPVC test was responsible for undetermined results, which were not clinically relevant.

Conclusion. – Despite the low viral load of the samples chosen, the hybridization (HC2) and PCR (AHPV or HPVC) methods gave comparable results, with false positive and false negative results for all tests, but a 75% concordance and a high sensibility to detect HPV infection. However, a complementary study on a larger population with ASCUS diagnosis and biopsy under colposcopy would be necessary to valid these assays for a clinical indication.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : HPV ; Dépistage ; Génotypage ; Capture d’hybrides ; PCR ; Hybridation

Keywords: HPV; Detection; Genotyping; Hybrid capture; PCR; Hybridization

1. Introduction

Les papillomavirus humains sont considérés comme l’un des principaux facteurs étiologiques impliqués dans le développement des cancers du col de l’utérus [1]. Plus de 20 types d’HPV sont associés au cancer du col et sont définis comme à haut risque (HR) oncogène (HPV 16 et 18 dans 60 à 72 % des cas). Malgré une clairance naturelle de plus de 90 % des infections à HPV, le dépistage de lésions du col de l’utérus par le frottis cervicovaginal et la recherche d’HPV à HR oncogène par typage virologique en fonction du résultat du frottis sont indispensables à la prévention du cancer du col. Leur détection au sein de l’épithélium cervico-utérin apparaît comme un auxiliaire décisionnel essentiel pour le clinicien en complément du frottis cervicovaginal dans le cadre du triage des atypies mineures ou *atypical squamous cell of undetermined significance* (ASCUS). Ainsi, la nécessité d’une technique sensible et spécifique s’est rapidement imposée. De nombreuses publications ont apporté la preuve de l’aptitude de la technique Hybrid Capture[®] 2 (HC2), Digene, à la détection du génome des HPV HR sur des prélèvements cervicaux. Cependant, d’autres techniques de détection des HPV HR sont apparues sur le marché ces dernières années. Nous avons donc souhaité effectuer une comparaison avec deux techniques d’amplification–hybridation : HPV Consensus kit[®] (HPVC), Argène, ne disposant pas d’une autorisation de mise sur le marché pour une activité de diagnostic et Amplicor HPV test (AHPV), Roche. Les résultats de ces trois techniques ont été comparés à une méthode de référence, basée sur l’utilisation d’une PCR nichée et un typage par séquençage du fragment amplifié permettant de trancher en faveur d’un génotype HR ou BR.

2. Matériel et méthodes

2.1. Prélèvements cervicaux

Les prélèvements cervicaux de 88 patientes, adressés par différents centres régionaux pour détection génomique et typage des HPV, ont été sélectionnés sur la base du résultat de la technique de détection Hybrid Capture[®] 2 utilisée en routine au laboratoire. Les critères de sélection de ces échantillons étaient prioritairement une faible charge virale (valeur du résultat de la technique Digene < 10) (Tableau 1) et la discordance éventuelle entre le résultat du test virologique et celui du frottis cervicovaginal.

Ces prélèvements ont été réalisés à l’aide d’une cytobrosse conservée dans trois systèmes de recueil différents : le tampon fourni par Digene (HC Cervical Sampler[®]) et deux systèmes permettant la réalisation de frottis en phase liquide (Cytoc Thinprep Pap Test[™] en solution PreservCyt[®] et Labonord[®]).

2.2. Méthodes (Fig. 1)

Le test ADN Hybrid Capture[®] 2 HPV-haut risque (HC2) est le test de détection et de typage des HPV utilisé en routine dans notre laboratoire. Il est basé sur la formation d’hybrides ADN/ARN capturés en microplaque avec amplification de signal par chimiluminescence permettant une détection semi-quantitative de l’ADN d’HPV dans des prélèvements cervicaux. Cette technique permet de détecter environ 1 pg/mL de génome d’HPV, quantifié en *relative light unit* (RLU) supérieure ou égale à la valeur seuil calculée à partir des standards présents à chaque série. Une valeur inférieure au seuil est considérée comme négative. Des contrôles positifs et négatifs sont incorporés à chaque série. Ce test, commercialisé par la firme Digène, permet la mise en évidence de 13 types d’HPV dits à haut risque : HPV types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68 (Tableau 2).

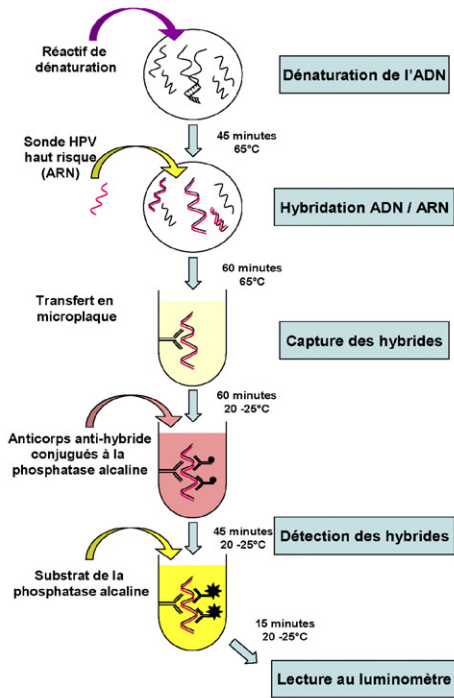
Les échantillons étant dénaturés à la suite du test HC2, une étape de renaturation de l’ADN viral est nécessaire avant de débiter les techniques utilisant une PCR, ces dernières nécessitant une extraction d’ADN avant l’étape d’amplification. L’ADN est ensuite extrait à l’aide du kit QIAamp DNA Blood Mini Kit[®] (Qiagen) selon les recommandations du fabricant. Une PCR « HLA » utilisée au laboratoire permet de contrôler l’efficacité de l’extraction et l’absence d’inhibiteurs par amplification d’un gène humain.

Le test HPV Consensus[®] kit (HPV C) a été fourni par le laboratoire Argène. Cette trousse est utilisée pour le dépistage

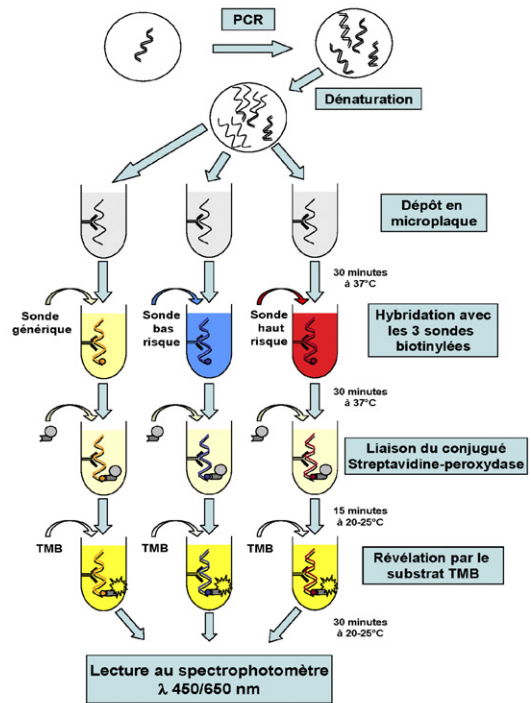
Tableau 1
Valeur des ratios de la technique Hybrid Capture[®] 2 (Digène) des 88 patientes sélectionnées

Ratio	Nombre de patientes
> 10	34
5 à 10	11
1 à 5	17
0,6 à 1	9
< 0,6	17

Hybrid Capture 2, Digene



HPV Consensus kit, Argène



Amplacor HPV test, Roche

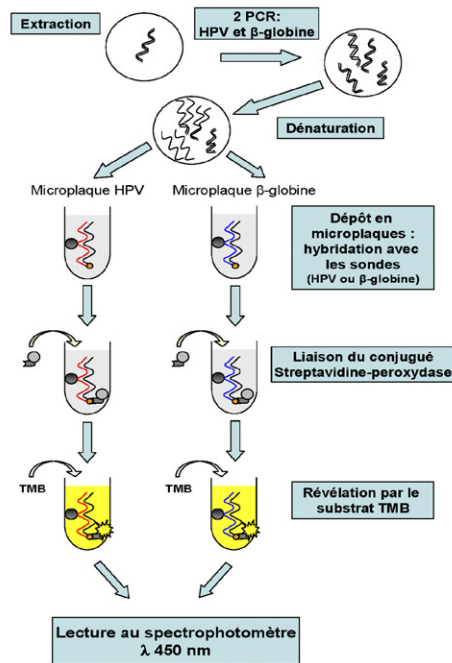


Fig. 1. Principe des trois techniques de détection des HPV HR.

du génome de 25 types d'HPV dans les prélèvements cervicaux. Après une étape d'extraction d'ADN total, l'ADN d'HPV est amplifié par PCR, puis hybridé avec une sonde biotinylée sur plaque de microtitration. Elle différencie les deux groupes d'HPV suivants : HPV à haut risque oncogène (types

16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 56, 58) et HPV à bas risque (types 6 et 11). Une troisième sonde dite « générique » permet un dépistage plus large des types d'HPV en un seul puit : 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 68.

Tableau 2
Classification épidémiologique des différents types de HPV [5]

HR	BR
16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 82, 26 ^a , 53 ^a , 66 ^a , 73	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70 ^b , 72, 81, CP6108

^a Types probablement à HR.

^b Génotype 70 pouvant être impliqué dans des lésions de haut grade selon certains auteurs [16].

Le test Amplicor HPV[®] (AHPV) a été fourni par le laboratoire Roche Diagnostic. Après une étape d'extraction d'ADN total, un fragment d'environ 165 pb du gène *LI* d'HPV est amplifié parallèlement à un fragment de 268 pb du gène de la bêta-globine. L'hybridation est réalisée avec des sondes spécifiques d'HPV haut risque et du gène de la bêta-globine et la détection s'effectue en chimiluminescence. Ce test permet de détecter 13 génotypes d'HPV dits à haut risque : HPV types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68.

Ces réactifs sont utilisés selon les recommandations techniques des fabricants, Digene pour le test ADN Hybrid Capture[®] 2 HPV-haut risque, Argène pour le test HPV Consensus kit[®] et Roche pour le test Amplicor HPV[®].

Les résultats discordants entre les différentes troupes sont analysés à l'aide d'une PCR nichée et d'un typage moléculaire par séquençage direct du produit de PCR. L'ADN extrait est amplifié à l'aide des amorces externes MY09 et MY11 [2], puis à l'aide des amorces internes GP5 et GP6 [3]. Les PCR externe et interne permettent l'amplification de fragments respectivement de 450 et 150 pb. Le fragment de 450 pb du gène *LI* a été cloné dans le plasmide pGEM-T (Promega) selon les recommandations du fabricant.

Ces fragments sont ensuite analysés par séquençage à l'aide des amorces GP5 et GP6. Les séquences nucléotidiques sont analysées sur un séquenceur automatique ABI Prism 3100 Genetic Analyser[®] (Applied Biosystems) couplé au logiciel Sequencing Analysis 2.1.2[®] (Applied Biosystems), puis décryptées à l'aide du logiciel Chromas[®]. Afin de déterminer le génotype des différents isolats, les séquences sont comparées à l'ensemble des séquences génomiques disponibles dans la banque de données GenBank à l'aide du logiciel Blast[®] [4]. Cette technique permet de détecter des mélanges de souches en analysant séparément les deux tracés retrouvés sur l'électrophorogramme. Les échantillons sont ensuite classés en HR ou BR d'après les données de la littérature [5] (Tableau 2).

3. Résultats

Il nous est apparu essentiel d'utiliser en référence une PCR nichée afin d'augmenter la sensibilité de détection des souches de HPV et de pouvoir déterminer de la façon la plus précise les performances de chaque technique. La sensibilité de chacune de ces PCR a été calculée à partir d'une gamme de dilutions du plasmide pGEM-T contenant un fragment de 450 pb du gène *LI*. La limite de détection de la PCR MY est de 10⁵ copies d'ADN et celle de la PCR GP entre une et dix copies d'ADN.

Au sein de notre panel de 88 échantillons, deux n'ont pas pu être typés par séquençage à la suite de l'amplification par PCR. Ces deux échantillons ont donc été exclus des résultats afin de calculer les performances de chaque technique. Aucune des patientes n'a présenté d'infection par des HPV multiples.

Parmi les 86 échantillons présentant des résultats exploitables, un HPV HR a été détecté dans 69,7 % des cas (60 échantillons sur 86) par la technique HC2, dans 58 % des cas (50 échantillons sur 86) par la technique HPVC et dans 76,7 % des cas (66 échantillons sur 86) par la technique AHPV. De par la conception de la trousse HPVC, 13 échantillons ont présenté un résultat « générique » et neuf un résultat « BR ». La concordance globale des trois techniques est retrouvée dans près de 60 % des cas. Mais, prises deux à deux, leur concordance augmente sensiblement pour approcher les 75 %. L'étude génotypique par PCR, puis séquençage de chaque

Tableau 3
Analyse des résultats discordants par tests

Résultats des tests	Génotypes	Nombre d'échantillons	
HC2 HR	6	1	
	54	1	
	62	1	
	70	2	
	62 + 70	1	
	84	1	
	négatif	1	
	HC2 négatif	16	2
		31	1
		33	2
53		1	
58		1	
HPVC HR	6	1	
	54	2	
	70	1	
	35	1	
HPVC BR	16	1	
	33	2	
	39	1	
	53	3	
	62	1	
	68	1	
	70	1	
	62 + 70	1	
	84	1	
	négatif	1	
HPVC négatifs	16	2	
	33	1	
	53	1	
	58	1	
AHPV HR	6	2	
	44	1	
	54	1	
	62	2	
	70	2	
	84	1	
	négatifs	6	
	AHPV négatifs	16	1
		18	2
		31	1
33		1	
45		1	
53		2	

En gras : HPV HR.

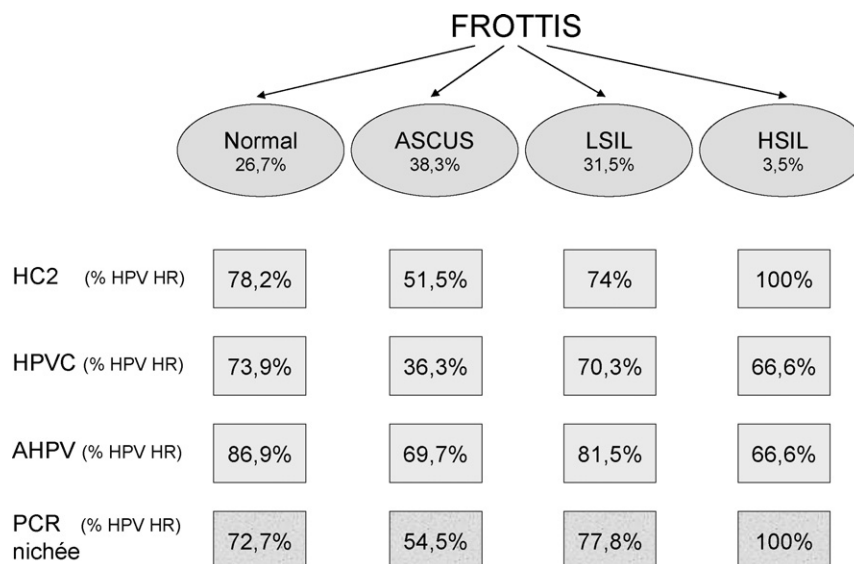


Fig. 2. Proportions d'HPV HR retrouvées par chaque technique en fonction des résultats du frottis cervicovaginal.

échantillon a montré que la technique HC2 a un taux de 9,3 % de faux-positifs (un négatif, deux génotypes BR et quatre génotypes de risque indéterminé) et un taux de 7,9 % de faux-négatifs (sept génotypes HR) sur notre population. Pour la technique HPVC, le taux de faux-positifs s'élève à 4,6 % (trois génotypes BR). On considère comme faux-négatifs de cette technique les échantillons avec un HPV HR détecté par la PCR nichée et étiqueté BR ou négatif par la technique : leur taux est de 5,8 % (un génotype étiqueté BR et quatre génotypes étiquetés négatifs). Pour la technique AHPV, on observe un taux de faux-positifs de 17,4 % (six négatifs en PCR et neuf génotypes BR) et un taux de faux-négatifs de 9,3 % (huit génotypes HR) (Tableau 3).

L'analyse détaillée des performances de chacune permet de mettre en évidence la supériorité de la technique HPVC avec une sensibilité de 90 % et une spécificité de 81,8 %. Cependant, ces valeurs ont été calculées après exclusion de 13 résultats génériques qui traduisent la présence d'HPV dans le prélèvement mais sans déterminer le type HR ou BR du virus : ces 13 échantillons comportaient huit génotypes HR, quatre génotypes BR et un négatif. La technique HC2 présente, quant à elle, une sensibilité de 88 % et une spécificité plus faible de 66,6 %. La technique AHPV montre une spécificité très basse sur notre panel d'échantillons qui la classe donc comme la moins performante des trois avec 15 faux-positifs (six négatifs en PCR et neuf réactions croisées) (Tableau 4).

Concernant la relation entre le résultat du frottis cervicovaginal et la détection d'HPV HR dans les prélèvements, on

retrouve une prévalence d'HPV HR qui augmente parallèlement à la sévérité des lésions retrouvées au frottis cervicovaginal quelle que soit la technique utilisée à l'exception d'une prévalence des HPV HR élevée (supérieure à 70 %) dans les frottis sans lésion (Fig. 2).

4. Discussion

Les performances des trois techniques sont assez proches en terme de sensibilité mais varient, en revanche, très largement sur le plan de la spécificité. Le test HPVC semble obtenir les meilleures performances après avoir évincé les résultats génériques de la comparaison pour le rendre comparable aux deux autres techniques. Cependant, les deux autres techniques ont déjà démontré leur très bonne performance dans des études antérieures [6].

Concernant la technique HC2, Clavel et al. ont montré que le test HC2 était très sensible (92,8 %) pour la détection des lésions de haut grade et très proche de celle d'une PCR utilisant les amorces GP5+/GP6+ [7]. Les travaux de Solomon et al. ont ensuite mis en évidence l'intérêt du test HC2 dans la prise en charge des femmes avec une lésion de type ASCUS [8]. De plus, cette technique bénéficie d'une bonne reproductibilité inter-laboratoire avec un coefficient de 0,84 [9]. Cependant, une réactivité croisée de la sonde HR HC2 avec certains types d'HPV non oncogènes les types 11, 61, 66, 67, 70, 71 et 81 est connue [10]. Cette réactivité croisée serait principalement due à la proximité phylogénétique des différents HPV impliqués. Dans notre étude, deux génotypes 70 ont été retrouvés par typage moléculaire, alors qu'ils avaient été typés HR par HC2. C'est la proximité phylogénétique avec le génotype 39 inclus dans la sonde HR, qui a permis cette détection et ainsi provoqué une erreur de typage. De plus, le fabricant signale des hybridations croisées entre la sonde HR HC2 et les HPV 6 et 42 en cas de forte charge virale. C'est probablement le cas de l'échantillon qui a été typé HR par HC2 avec un typage moléculaire HPV 6. Quant aux faux-négatifs de cette technique, il semblerait qu'il s'agisse soit

Tableau 4

Performance des trois techniques pour détecter un HPV HR

	HC2 (%)	HPVC (%)	AHPV (%)
Sensibilité	88,1	90 ^a	86,5
Spécificité	66,6	81,8 ^a	42,8
VPP	85,2	92 ^a	76,1
VPN	72	78,2 ^a	60

^a Calculées après exclusion des résultats indéterminés (« génériques »).

d'un faible nombre de copies d'ADN viral présentes dans le prélèvement sachant qu'HC2 est une technique d'amplification du signal et non de la cible, soit de génotypes non détectés par la sonde HR HC2 tel que le génotype 53.

Avec la technique HPVC, le nombre de faux-positifs est assez faible avec seulement quatre échantillons. On retrouve un génotype 6 probablement par le même mécanisme de réactions croisées qu'avec la sonde HR HC2, ainsi que deux génotypes 54 et un génotype 70. Parmi les faux-négatifs, le génotype 53 n'a pas été détecté car il n'est pas contenu dans la sonde HR mais le test aurait dû détecter les deux génotypes 16 et le génotype 33. Avec cette technique, 13 échantillons ont été classés dans les génériques par la technique HPVC. Ils n'avaient pas pu être inclus dans le calcul des performances car les techniques HC2 et AHPV ne possèdent pas de résultat équivalent. Parmi eux, six correspondent à des génotypes uniquement présents dans la sonde générique : on retrouve les génotypes 39, 53, 68 et 70 avec une particularité pour le génotype 70 qui n'est pas contenu dans la sonde générique mais qui se rapproche du génotype 39 sur le plan phylogénétique [11] ce qui peut expliquer l'hybridation croisée. Pour les génotypes 16 et 33, la technique HPVC aurait dû les détecter en HR et non pas en génériques car ils sont contenus dans la sonde HR. Quant aux génotypes 62 et 84, seule une hybridation croisée avec un génotype contenu dans la sonde générique peut expliquer ces résultats. Le dernier échantillon présentait une valeur de DO à la limite du seuil de positivité pour la sonde générique de la technique HPVC et n'a pas pu être amplifié en PCR. Il s'agit donc d'un vrai négatif avec un probable bruit de fond pour la technique HPVC. Cette sonde générique semble donc très puissante pour détecter des HPV HR et BR mais l'impossibilité de pouvoir classifier les génotypes en fonction du risque oncogène limite son utilisation en pratique clinique.

Le nombre de faux-positifs avec la technique AHPV est très élevé dans notre étude par rapport aux données de la littérature. Nous retrouvons comme avec les deux autres tests, une réactivité croisée avec le génotype 6 démontré dans deux études [6,12]. De plus, six échantillons ont été étiquetés HR sans qu'aucun HPV ait pu être détecté par PCR nichée ce qui a déjà été retrouvé dans l'étude de Sandri et al. (sept échantillons négatifs étiquetés HR). Parmi les huit faux-négatifs, deux contiennent un génotype 53 non détectable par la sonde HR AHPV. Pour les six restants, quatre n'ont pas été détectés par la sonde HR HC2 et les deux derniers présentaient des ratios inférieurs à 15 en HC2.

L'analyse des génotypes détectés chez nos 86 patientes montre une répartition très proche des données de la littérature concernant le rapport HR sur BR avec des divergences sur la fréquence de chaque génotype. Pour les génotypes étudiés, le rapport HR/BR est 3,68 (59 génotypes HR et 16 génotypes BR). Une étude de prévalence menée en Italie a estimé ce rapport à environ 3,6 [13]. Toutes les études s'accordent sur le fait qu'HPV 16 est largement majoritaire (au minimum 20 % dans les études menées sur des patientes sans lésions cervicales) suivi par HPV 18, 45 et 59. Dans le cas présent, il est impossible d'estimer correctement cette répartition pour deux raisons : le panel de patientes « génotypées » est trop réduit pour déterminer une prévalence et le génotypage a été réalisé sur

des patientes dont les résultats étaient discordants entre les techniques de dépistage, induisant un biais de sélection au sein de l'ensemble des génotypes. À ce stade, il est donc impossible de faire un état des lieux précis concernant la répartition des génotypes dans le sud-ouest de la France. Un génotypage plus systématique de toutes les patientes ayant un résultat positif HR au test de dépistage effectué en routine permettrait d'apporter une vision plus précise de l'épidémiologie de l'infection à HPV.

Parmi les résultats de frottis des 86 patientes sélectionnées, nous retrouvons 23 frottis sans signe de malignité (26,7 %), 33 ASC-US (38,3 %), 27 LSIL (31,5 %) et trois HSIL (3,5 %). Les 3 % de frottis anormaux dépistés en France se répartissent en 1,4 % d'ASCUS, 1,1 % de LSIL, 0,25 % de HSIL et moins de 0,05 % de cancer [14]. Nos résultats, diffèrent de ceux de la littérature en ce qui concerne la proportion d'HPV HR positifs parmi les frottis normaux : plus de 70 % versus 14,3 % dans l'étude de Riethmuller et al. [15]. Les valeurs anormalement élevées de la prévalence des HPV HR dans les frottis sans lésion dysplasique retrouvées dans notre étude s'expliquent par un biais de sélection de nos échantillons puisque certains échantillons ont été choisis pour leur discordance entre le résultat du frottis et le résultat du test HC2.

5. Conclusion

Cette étude a permis de tester deux nouvelles trousse de dépistage et de typage de l'infection à HPV sur prélèvements cervicaux : HPV Consensus kit[®] (Argène) et AmpliCor HPV[®] (Roche Diagnostics). Nos résultats tendent à montrer des performances de détection de l'infection à HPV inférieures à celles décrites dans la littérature pour les tests HC2 et AHPV mais cela s'explique par le biais de sélection de nos échantillons. Quant à l'utilisation en routine de la trousse HPVC, malgré ses très bonnes performances en termes de détection d'une infection à HPV, elle devrait être couplée à un typage par PCR-séquençage pour élucider les résultats positifs avec la sonde générique ce qui complique son utilisation. En l'état actuel, les trousse HC2 et AHPV semblent donc plus adaptées à une pratique de routine qui permet de détecter les femmes à risque de développer des lésions de haut grade en cas de persistance d'un HPV HR.

Après cette étude préliminaire, il serait nécessaire de comparer ces trois techniques sur une large population avec un diagnostic cytologique d'ASCUS et une biopsie sous colposcopie avant de valider ces techniques pour une indication clinique.

Remerciements

Nous remercions les firmes Digene, Argène et Roche, l'Équipe d'accueil de l'université de Limoges EA3175, la Délégation à la recherche clinique du CHRU Dupuytren de Limoges et la CPAM du Limousin pour leur soutien.

Références

- [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] Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky SM. Use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papillomavirus. *Cancer Cells* 1989;7:209–14.
- [3] Husnjak K, Grce M, Magdic L, Pavelic K. Comparison of five different polymerase chain reaction methods for detection of human papillomavirus in cervical cell specimens. *J Virol Methods* 2000;88:125–34.
- [4] Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 1997;25:3389–402.
- [5] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518–27.
- [6] Sandri MT, Lentati P, Benini E, Dell’Orto P, Zorzino L, Carozzi FM, et al. Comparison of the Digene HC2 assay and the Roche AMPLICOR human papillomavirus (HPV) test for detection of high-risk HPV genotypes in cervical samples. *J Clin Microbiol* 2006;44:2141–6.
- [7] Clavel C, Masure M, Putaud I, Thomas K, Bory JP, Gabriel R, et al. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol* 1998;51:737–40.
- [8] Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:293–9.
- [9] Castle PE, Wheeler CM, Solomon D, Schiffman M, Peyton CL. Inter-laboratory reliability of Hybrid Capture 2. *Am J Clin Pathol* 2004;122: 238–45.
- [10] Castle PE, Schiffman M, Burk RD, Wacholder S, Hildesheim A, Herrero R, et al. Restricted cross-reactivity of hybrid capture 2 with nononcogenic human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:1394–9.
- [11] Longuet M, Beaudenon S, Orth G. Two novel genital human papillomavirus (HPV) types, HPV68 and HPV70, related to the potentially oncogenic HPV39. *J Clin Microbiol* 1996;34:738–44.
- [12] van Ham MA, Bakkers JM, Harbers GK, Quint WG, Massuger LF, Melchers WJ. Comparison of two commercial assays for detection of human papillomavirus (HPV) in cervical scrape specimens: validation of the Roche AMPLICOR HPV test as a means to screen for HPV genotypes associated with a higher risk of cervical disorders. *J Clin Microbiol* 2005;43:2662–7.
- [13] Ronco G, Ghisetti V, Segnan N, Snijders PJ, Gillio-Tos A, Meijer CJ, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in women in Turin, Italy. *Eur J Cancer* 2005;41:297–305.
- [14] Bergeron C, Cartier I, Guldner L, Lassalle M, Savignini A, Asselain B. Lésions précancéreuses et cancers du col de l’utérus diagnostiqués par le frottis cervical, Ile-de-France, enquête Crisap, 2002. *BEH* 2005;2:5–6.
- [15] Riethmuller D, Gay C, Bertrand X, Bettinger D, Schaal JP, Carbillet JP, et al. Genital human papillomavirus infection among women recruited for routine cervical cancer screening or for colposcopy determined by Hybrid Capture 2 and polymerase chain reaction. *Diagn Mol Pathol* 1999;8: 157–64.
- [16] Bernard HU. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005;32 (Suppl. 1): S1–6.