



**DEPISTAGE PRIMAIRE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS PAR FROTTIS CERVICO-VAGINAL ET TYPAGE HPV DANS LE DISTRICT DE MBAO AU SENEGAL**  
SY- DIALLO M.<sup>1</sup>; FAYE O.<sup>1</sup>; MBAYE E.H.S.<sup>2</sup>; DIALLO A.S.<sup>1</sup>, GUEYE M.V. <sup>1</sup>, DIOP N<sup>1</sup>, DEM A.<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Laboratoire De Cytologie Clinique, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction Centre Hospitalier et Universitaire Aristide le Dantec

<sup>2</sup>Institut Curie, Service de Cancérologie Centre Hospitalier et Universitaire Aristide le Dantec

**Correspondant** : Dr Mama SY- DIALLO, Médecin Biologiste, Laboratoire De Cytologie Clinique, Cytogénétique et Biologie de la Reproduction .Centre Hospitalier et Universitaire Aristide le Dantec. BP : 6153 Dakar Etoile .Tél : +221 77631 96 97.E-mail : [mamatas@yahoo.fr](mailto:mamatas@yahoo.fr)

## RESUME

**Objectif** : Le but de notre étude était de rapporter les résultats d'une campagne de dépistage du cancer du col dans la région de Dakar (district de Mbao), dans laquelle, une cohorte de patientes a bénéficié à la fois d'un frottis cervico-vaginal et d'un typage HPV. **Patientes et Méthode** : Il s'agissait d'une étude prospective dans laquelle 202 femmes ont bénéficié d'un prélèvement en vue d'un typage du virus HPV et d'un prélèvement pour lecture cytologique conventionnelle, durant le mois de mars 2011. Un screening de 24 types de HPV a été effectué par PCR grâce à un kit (TS-MPG) Type-Specific E7 PCR bead-based Multiplex Genotyping Assay (TS-MPG). **Résultats** : L'âge moyen de nos patientes était de 41,1 ±11,5 ans. Le typage du virus HPV était positif dans 22,7% des cas (n=46). Le génotype 52 (24%) était le plus fréquent suivi des types 53 (19%) et 31 (15%). Le frottis cervico-vaginal était normal chez toutes les femmes ayant un typage HPV négatif (n=158). Parmi les femmes positives pour le typage HPV, nous avons retrouvé 15 lésions de bas grade de Bethesda, et 3 frottis de type ASCUS. **Conclusion** : L'association frottis cervico-vaginal et typage HPV offre un dépistage optimal. Son coût pourrait être compensé par un espacement du rythme de surveillance. La vaccination prenant en compte les génotypes 16 et 18 pourraient se heurter à des variations géographiques. **Mots Clés** : Dysplasie, dépistage, cancer col utérin, typage HPV, frottis cervico-vaginal

## ABSTRACT

**Objective** : The aim of our study was to report the results of a primary cervical screening, in Dakar region( district of Mbao), with both human papilloma virus (HPV) DNA testing and cytological examination of cervical cells with a Pap test (Cytology). **Methods** : We conducted a prospective study, with samples collected for HPV DNA testing and Pap test ,during March 2011.Two hundred and two samples were included .The HPV DNA testing was performed using an HPV type-specific E7 PCR bead-based multiplex genotyping assay (TS-MPG).Pap smears were made and read after collection by Ayre spatula as described in conventional cytology. **Results**: The mean age of our patients was 41,1 years ±11,5.The prevalence of HPV in our cohort was 22,7%.The most prevalent type of HPV was HPV52 (24%), followed by HPV 53 (19%) and HPV 31 (15%).Among women, positive for HPV DNA testing, we found 15 LSIL (Low grade squamous intra epithelial lesion) and 3 pap smear classified as ASCUS (Atypical squamous cell under significance). **Conclusion**: Primary HPV DNA testing screening with cytology triage appears to be an optimal screening in matters of sensitivity and specificity. Extending screening intervals could reduce the cost of that screening strategy. The Vaccination in our region should take into account the most prevalent type of HPV.

**Key words**: Dysplasia, Screening, cervical cancer, Pap test, DNA HPV testing,

## INTRODUCTION

La pratique du frottis cervico-vaginal (FCV) a permis une réduction significative de l'incidence du cancer du col dans le monde au cours des dernières décennies. Le cancer du col de l'utérus reste un problème majeur de santé publique. Il s'agit du 2<sup>ème</sup> cancer de la femme dans le monde après le cancer du sein et son incidence est de 500 000 nouveaux cas par an, malgré la mise en place de politiques de dépistage. Une inégalité importante existe en termes de mortalité dans les pays en voie

de développement et le taux de décès est de 22,5 pour 1000 en Afrique subsaharienne vs 2,5 pour 1000 en Amérique du Nord [1], [2], [3].De nombreux essais ont confirmé qu'un test combiné comportant un frottis et un test HPV augmenterait la sensibilité du dépistage conventionnel d'environ 25 à 30% ramenant la sensibilité de détection à près de 100%[4] La pratique du test combiné frottis et HPV ou plutôt le triage des frottis après typage HPV donnerait une protection maximale face à la survenue du cancer du col pour les femmes

qui pourraient en bénéficier. Actuellement, l'indication du typage HPV reste dans la pratique clinique, le triage des FCV de type ASCUS (Atypical squamous cell under significance). Le but de cette étude, qui est une étude préliminaire était de rapporter les résultats d'une campagne de dépistage dans la banlieue de Dakar (Mbao) au cours de laquelle 202 femmes ont bénéficié à la fois d'un frottis cervico-vaginal et d'un typage HPV.

### MATERIEL ET METHODES

**Type d'étude :** Il s'agit d'une étude prospective et analytique, qui a été réalisée durant le mois de mars 2011 dans la banlieue de Dakar, plus exactement dans la localité de Mbao, durant deux journées au cours desquelles un dépistage volontaire a été effectué.

**Patientes :** Deux cent deux (202) patientes ont été incluses dans notre étude. Ont été exclues de l'étude les femmes présentant un col très inflammatoire avec d'importantes leucorrhées ainsi que celles qui présentaient une tumeur visible. En effet une biopsie a été directement effectuée pour une analyse anatomopathologique. Un consentement éclairé a été obtenu de la part des patientes et notre travail approuvé par le comité d'éthique universitaire.

### Prélèvements des échantillons et analyse

**Le frottis cervico-vaginal :** La cytobrosse type cervex de type cervex brush permet de récolter en un seul geste les cellules endo et exocervicales. Un frottis a été réalisé avec étalement des cellules et Les lames ont été lues après coloration par la technique de Papanicolaou. Les résultats sont reportés selon la classification de Smith Bethesda 2001[5]. En vue d'un génotypage HPV, un second prélèvement est conservé dans le flacon qui contient un fixateur (preservcyt de thinprep®). Les prélèvements sont conservés à 4 degrés avant extraction de l'ADN.

**Le génotypage HPV :** le typage HPV a été réalisé grâce au test (TS-MPG) Type-Specific E7 PCR bead-based Multiplex Genotyping Assay. Il s'agit d'un test de détection utilisant pour la PCR des primers spécifiques ciblant la région E7 du génome du virus (Type specific primer E7) et qui permet de détecter 19 types de HR-HPV ou HPV à haut risque oncogène (HPV 16,18,26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,68a,68b,70,73,et 82) et 2 LR-HPV ou HPV à bas risque oncogène (HPV 6 et 11). Après amplification, les produits de la PCR sont dénaturés puis hybridés avec des sondes

spécifiques biotinylés marquées grâce à un conjugué (R phycoerythryn streptavidin). Le Laser(Luminex Corporation,Austin TX) permet d' identifier chaque type de liaison et quantifie l'intensité de la fluorescence émise. Ce protocole est bien détaillé par Schmitt [6].

**Analyse statistique :** L'analyse des données a été effectuée grâce au logiciel R version 2.1.1 et une conversion sur Excel a permis d'obtenir les graphiques présentés. Pour les données suivant une distribution normale, une différence de moyenne était considérée comme significative lorsque  $p$  était  $<0,05$ .

### RESULTATS

#### Âge

L'âge moyen de nos patientes était de  $41,1 \pm 11$  avec des extrêmes de 18 ans et 88 ans. Les patientes âgées de moins de 30 ans représentaient 15,8% de notre échantillon. (Figure 1)

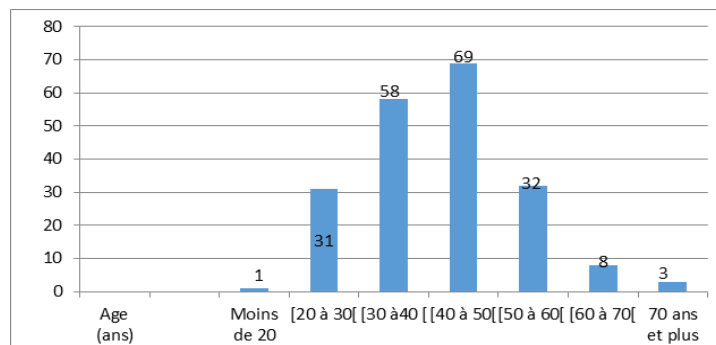


Figure 1 : Répartition de l'échantillon en fonction des tranches d'âge

#### Résultats de la cytologie

Dans 91 % des cas ( $n=184$ ), l'analyse cytologique n'a révélé aucune lésion suspecte de malignité. Parmi ces frottis, 131 présentaient une inflammation. Les lésions intra-épithéliales de bas grade de Bethesda (LSIL) représentaient 7,5% de l'échantillon (figure 2). Nous n'avons pas objectivé de Lésions intra-épithéliales de Haut grade (HSIL).

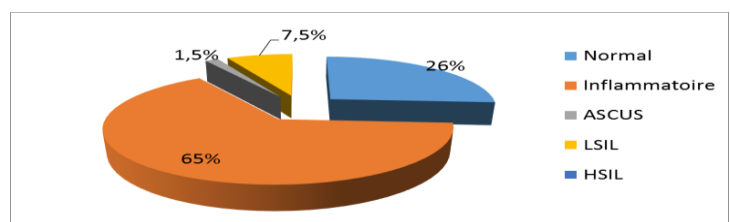


Figure 2 : Résultats de la cytologie

### Répartition des frottis en fonction de l'âge.

Les lésions de bas grade retrouvées au cours des frottis concernaient majoritairement la tranche des femmes de plus de 40 ans (12 LSIL sur 15) et 2 frottis de type ASCUS sur 3.

### Résultats du typage HPV

Le typage HPV était positif chez 46 patientes (22,7%).

Sur les 46 infections HPV retrouvées, 95,7% (n=44) sont dues à des HR HPV et 4,35% dues à des LR HPV. Les 46 infections HPV retrouvées concernent 16 génotypes dont 14 à haut risque et 2 à bas risque. Le génotype le plus souvent identifié est le 52 suivi des types 53, 31, 16 et 45 (voir figure 3). Le type 16 représentait 9,5% des infections à HPV de l'échantillon et le type 18, 1,6%. Les génotypes retrouvés sont représentés par ordre de fréquence au niveau de la figure 3.

### Répartition des résultats du test HPV en fonction de l'âge

La prévalence du virus HPV est la plus élevée dans la tranche d'âge des femmes entre 30 et 40 ans (25%). (Voir tableau I)

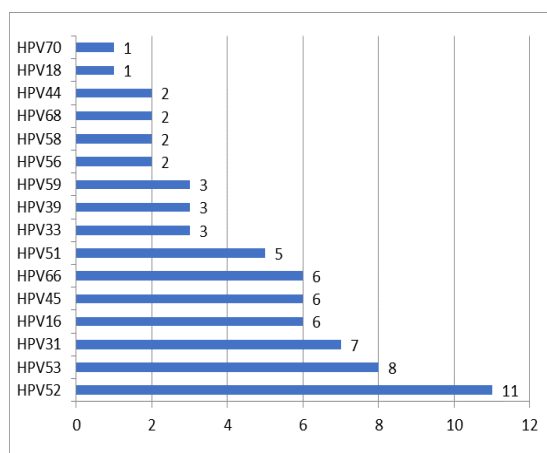


Figure 3: Répartition des génotypes de HPV retrouvés

Tableau I : Résultats du test HPV en fonction de l'âge

Age (ans)	Effectif HPVHR	Prévalence HPVHR	Effectif HPVLR	Prévalence HPVLR
<30 (n=32)	6	18,8%	1	3,1%
30-40 (n=64)	16	25%	0	0%
>40 (n=106)	22	20,7%	1	0,9%

### Correspondance entre résultats de la cytologie et typages HPV

Les frottis étaient normaux dans 100% des cas lorsque le typage HPV était négatif. 14 lésions de bas grade ont été retrouvées chez les 44 patientes porteuses d'un HPV à haut risque ainsi que 2 frottis ASCUS. Le taux de dysplasies de bas grade est donc de 31,8% chez les patientes porteuses d'un HPV à haut risque vs 7,5% si l'on considère tout l'échantillon. (Tableau II)

Tableau II : Corrélation entre les résultats du frottis et du typage HPV

Résultats Cytologie	Résultats du typage HPV		Total 202
	HPV négatif 156	HPV positif 46	
		HR HPV 44 LR HPV 2	
Normal	156	28	184
ASCUS	0	2	3
LSIL	0	14	15

### DISCUSSION

#### Age moyen

L'âge moyen de nos patientes était de  $41,1 \pm 11$  et la classe d'âge la plus représentée dans notre série était celle des 40-50 ans (34,1%). Ces données sont proches de celles de Mbaye[7] qui a retrouvé un âge moyen de 41,8 ans pour 943 patientes recrutées au cours de dépistage du cancer du col par HPV dans 4 régions différentes du Sénégal ( $p > 0,05$ ). La classe d'âge la plus représentative de notre échantillon est celle des 40-50 ans (34,1% de la série) alors que dans notre pratique la classe d'âge la plus représentative était celle des 20-30 ans (37,2% d'une cohorte de 57327 patientes) [8]. Dans notre série, les moins de 30 ans ne représentaient que 15,8% des patientes. Cette différence pourrait être due au fait que notre étude provient de données entre 1980 à 1991 et que l'âge des femmes au mariage ainsi qu'aux premiers dépistages a dû augmenter.

#### Résultats de la Cytologie

Nous avons observé un taux de dysplasie de bas grade à 7,5%. Ce taux est proche du taux

retrouvé dans notre pratique (10,32 %)[8]. Nous n'avons pas retrouvé de lésions de haut grade dans notre série, la prévalence des lésions de haut grade était de 6% chez les femmes dépistées au laboratoire de Cytologie du CHU A. Le Dantec de Dakar [8].

#### **Résultats du dépistage combiné résultats HPV**

Le Frottis cervico-vaginal (FCV) reste un examen très spécifique 96,3%(IC 96,1-96,5) mais peu sensible (53%) lorsqu'il s'agit de détecter une lésion intra-épithéliale de haut grade (IC 48,6-57,4). (IC 95%). En revanche le typage ou le test HPV offre une sensibilité supérieure (95%) pour la détection des LIEHG [4].

Le FCV est un test subjectif, cytologiste dépendant [9] qui peut méconnaître des lésions précancéreuses. Le dépistage primaire combiné ou plutôt séquentiel utilisant le frottis et le test HPV a été évalué par de nombreuses séries [10], [11], [12]. En dépistage primaire, l'utilisation combinée des deux tests offre une valeur prédictive négative (VPN) proche de 100. En effet, l'utilisation secondaire du FCV permet un gain de sensibilité [13], [14]. Cette stratégie éviterait en France environ 1000 cancers du col chaque année [11]. Le surcoût que cette stratégie de dépistage pourrait engendrer pourrait être compensé par un espacement du rythme de dépistage (espacement de 5 ans entre 2 typages négatifs et d'un an si HPV HR positif) [16], [17]. En effet en cas de typage HPV négatif, le frottis se révèle négatif dans plus de 97% des cas [11].

Dans notre série cette stratégie qui consiste à trier les patientes HPV positives pour qu'elles bénéficient d'un frottis oriente vers la recherche attentive de lésions intra épithéliales parmi 46 patientes au lieu de 202, avec une attention particulière pour les porteuses d'un HPV de haut grade. La découverte d'un frottis avec une lésion de type LSIL ou ASCUS a permis d'orienter les patientes vers une colposcopie qui était négative. Le typage HPV comme seule méthode de dépistage n'égale pas la spécificité du frottis qui garde toute son indication dans notre pratique Par contre le typage HPV en première intention devrait être pris en compte dans la stratégie de dépistage comme un tri et moyen d'orientation pour la cytologie pour une efficacité de dépistage optimale. Cette stratégie est validée par le comité d'expert Eurogin en 2006 [18] pour les patientes âgées de plus de 30 ans. En effet, avant 30 ans la plupart des infections à HPV

disparaissent [19]. Cette étude révèle aussi que les génotypes les plus fréquents ne sont pas le 16 et le 18 ; en effet les HPV oncogènes les plus représentatifs étaient par ordre de fréquence le 52, le 53, le 31, le 16 et le 45 ; le génotype 18 était au 15<sup>ème</sup> rang par ordre de fréquence. Ces résultats suivent la même tendance que ceux présentés au sujet de la cohorte prenant en compte 4 régions du Sénégal. [7] (n= 948). Pourtant dans nos régions la vaccination prenant en compte les génotypes 16 et 18 est intégrée dans le programme national de vaccination. Nos données seraient-elle le témoin d'une discordance géographique ou le résultat d'un hasard d'échantillonnage ? Une étude multicentrique en Afrique subsaharienne sur de plus grandes cohortes permettrait de répondre à la question. Et cela d'autant plus qu'il existerait encore une centaine de génotypes encore inconnue [20].

#### **Facteur génétique**

La découverte de prédispositions génétiques individuelles au cancer du col de l'utérus [21], renforce le fait que le dépistage devra se maintenir chez les femmes vaccinées. Dans ce cas, l'utilisation du test HPV pour ce dépistage pourrait se heurter un manque de spécificité et rallonger le rythme de dépistage si le test est négatif en exposant les patientes à risque sur le plan génétique à une transformation cancéreuse pendant l'intervalle de surveillance.

#### **Perspectives**

Se tourner vers de nouveaux marqueurs plus spécifiques, tout en étant très sensible, moins coûteux semble être une nécessité .La recherche de l'expression de la p16INKa [22] ou des ARNm E6/E7 [23] sont en cours d'évaluation pour le dépistage. Le passage en cytologie en couche mince avec prélèvement systématique en milieu liquide dans nos régions permettrait de faciliter la recherche de nouveaux marqueurs grâce aux techniques de la biologie.

#### **CONCLUSION**

La recherche du virus HPV et idéalement son typage en dépistage primaire suivi d'un FCV semble être une stratégie de dépistage optimale qui peut se justifier. Son coût pourrait être compensé grâce à sa forte valeur prédictive négative qui permet un espacement du rythme de dépistage. Mais il semble que la

meilleure alternative serait l'utilisation de nouveaux marqueurs comme par exemple la p16 INK4a qui rend le dépistage hautement sensible et spécifique car témoin de l'activité oncogène du virus.

**Remerciements** au Professeur Ahmadou Dem de l'Institut Curie de Dakar et au Dr El Hadji Seydou Mbaye sans qui ce travail n'aurait pu être effectué.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

[1]Curado MP, Edwards B, Shin HR, Storm H, Ferlay J, Heanue M, et al. Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX. IARC Scientific publications No.160. Lyon, 2007.

[2]Arbyn M, Ronco G, Anttila A, Meijer CJ, Poljak M, Ogilvie G, Koliopoulos G, Naucler P, Sankaranarayanan R, Peto J. 2012. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. *Vaccine* 30:F88-F99.

[3]Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide-burden of gynaecological cancer: the size of the problem. *Best Pract Res Clin ObstetGynaecol*2006; 20: 207-25

[4]Cuzick J, Clavel C, Petry KU et al. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119:1095-101.

[5]Smith JH, Bethesda 2001, [Cytopathology](#). 2002 Feb;13(1):4-10.

[6]Schmitt M, Dondog B, Waterboer T, Pawlita M, Tommasino M, Gheit T. 2010. Abundance of multiple high-risk human papillomavirus (HPV) infections found in cervical cells analyzed by use of an ultrasensitive HPV genotyping assay. *J Clin Microbiol*, 48:143-149.

[7]Mbaye EHS, Gheit T, Dem A, McKay-Chopin S, Toure-Kane N, Mboup S, Tommasino M, Sylla BS, Boye CS Human Papillomavirus Infection in Women in Four Regions of Senegal. *J Med Virol*. 2014 Feb;86(2):248-56.

[8]Afoutou JM, Diallo AS, Silou J, Faye O, Abong R, Alipio R, Cissé ML, Diouf A, Cissé CT, Afoutou JFK, Moreau JC, Diawo Bah M, Anthonioz PH, Corrêa P. Une décennie de dépistage colpocytologique au CHU de Dakar.

[9]Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *Jama* 2001; 285:1500-5

[10]Naucler P, Ryd W, Tornberg S. Human papillomavirus and Papanicolaou tests to screen for cervical cancer. *N Engl J Med* 2007; 357:1589-97.

[11]Carcopino X, Boubli L. Le dépistage primaire par le test HPV : Résultats des grandes

Etudes randomisées. *La lettre du gynécologue*, n°343, juin 2009

[12] Sasieni PD, Cuzick J, Lynch Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Coordinating Network for Cervical Screening Working Group. *Br J Cancer* 1996; 73:1001-5

[13]Wright JD, Schiffman M, Solomon D, Cox JT, Garcia F, Goldie S. Interim guidance for the use of human papillomavirus DNA testings as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol* 2004; 103:304 -9. Petry KU,

[14]Menton S, Menton M, Loenen-Frosch F, de Carvalho GH, Holz B et al. Inclusion of HPV testing in routine cervical cancer screening for women above 29 years in Germany: results for 8466 patients. *Br J Cancer* 2003; 88:1570-7.

[16]Goldie SJ, Kim JJ, Wright TC. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in women aged 30 years or more. *Obstet Gynecol*. 2004 Apr; 103(4):619-31.

[17]Mandelblatt JS, Lawrence WF, Womack SM, Jacobson D, Yi B, Hwang Y et al. Benefits and costs of using HPV testing to screen for cervical cancer. *JAMA* 2002; 287:2372-81.

[18]Monsonogo J. Cervical cancer control, priorities and new directions. *Int J cancer* 2004;108:329-33.43. Arrêté du 19 mars modifiant l'arrêté du 3 avril 1985 fixant la nomenclature des actes de biologie médicale. *Journal Officiel* 2004 ; 30 mars.

[19]Wang SS, Hildesheim A. Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003;31:35-40.

[20]Monsonogo J. Papillomavirus et cancer du col de l'utérus. *Médecine/Sciences* 1996, 12 : 733-44.

[21]Rositch AF, Nowak RG, Patti E, Gravitt MS. Increased Age and Race-Specific Incidence of Cervical Cancer after Correction for Hysterectomy Prevalence in the United States From 2000 to 2009. *Cancer* July 1, 2014.

[22]Dachez R, Intérêt des nouveaux marqueurs dans la prise en charge des lésions précancéreuses du col utérin. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* (2008)37S, S152-S154

[23]Kraus I, Molden T, Holm R et al. Presence of E6 and E7 mRNA from human papillomavirus types 16, 18, 31, 33, and 45 in the majority of cervical carcinomas. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1310-7.