



**Centre National de Référence des
papillomavirus humains**

**Brochure à l'usage des
professionnels de santé**

Auteurs: Isabelle HEARD, Michel FAVRE

SOMMAIRE

PRESENTATION DU CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS	3
CAHIER DES CHARGES.....	4
COORDONNEES	5
DEFINITION DES HPV HAUT RISQUE ET BAS RISQUE.....	6
ENVOI D'ECHANTILLONS AU CNR HPV	8
TRANSMISSION DES RESULTATS	8
TESTS HPV REALISES AU CNR HPV.....	9
LES GENOTYPES HPV DETECTES AVEC LES PRINCIPALES TROUSSES COMMERCIALES	10
FACTEURS AFFECTANT LES RESULTATS DU TEST HPV	11
CONDITIONS DE BONNE REALISATION DE LA DETECTION DES HPV ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.	
DEMARCHE QUALITE DU CNR HPV.....	12
CONTROLES DE QUALITE EXTERNES.....	12
ORGANISATION DES OPERATIONS DE CONTROLE NATIONAL DE QUALITE DES EXAMENS DE RECHERCHE DU GENOME VIRAL DES HPV.	13
ACTIVITES DE RECHERCHE AU CNR HPV	14
ACTIVITES D'INFORMATION DU GRAND PUBLIC	15
FICHE DE RENSEIGNEMENTS CLINIQUES A JOINDRE A UNE EXPERTISE	17

Présentation du Centre National de Référence des papillomavirus humains

Le Centre national de référence des papillomavirus humains (CNR HPV) a été créé en réponse à l'avis du Comité technique des vaccinations et du Conseil supérieur d'hygiène publique de France du 9 mars 2007. Le principal objectif de la création de ce CNR visait la mise en place d'une surveillance de tous les types viraux dans le contexte de la mise sur le marché de vaccins contre les infections à certains types de HPV.

La candidature de l'Institut Pasteur en réponse à l'appel à candidature du 21 janvier 2008 a été retenue par l'Institut de veille sanitaire (InVS) sur la base de l'avis favorable rendu par le Comité des CNR qui a proposé sa nomination au ministre chargé de la Santé. Le CNR a été rattaché à l'unité de Génétique, Papillomavirus et Cancer Humain pour assurer son premier mandat (2008-2011).

L'InVS a également émis un avis favorable à la candidature de l'Institut Pasteur lors de l'appel à candidature en vue de la désignation des CNR pour la période 2012-2016. Le CNR est rattaché à l'unité de Rétrovirologie Moléculaire pour ce deuxième mandat.

Cahier des charges

Le Centre national de référence des Papillomavirus et ses éventuels laboratoires associés s'engagent à assurer les missions définies par l'arrêté du 29 novembre 2004 fixant les modalités de désignation et les missions des CNR (InVS, appel à candidature pour le mandat des CNR 2012-2016).

Il sera particulièrement demandé au Centre national de référence des papillomavirus de :

- Développer, en lien avec l'Institut de veille sanitaire, un réseau de laboratoires pratiquant des examens virologiques (détection et génotypage des papillomavirus) dans le but de mettre en place une base de données nationale. Ces résultats seront accompagnés d'informations de nature épidémiologique, en veillant à la représentativité de ce réseau. Une attention particulière devra être apportée à l'étude de la corrélation entre les lésions histologiques et les types d'HPV,
- Contribuer à l'évaluation des performances (sensibilité, spécificité) des méthodes de biologie moléculaire permettant le génotypage des papillomavirus oncogènes ou non, incluant les trousseaux commercialisés apparaissant sur le marché,
- Développer et valider des techniques de génotypage des HPV oncogènes et non oncogènes (éventuellement à partir d'autres prélèvements que le frottis cervico-utérin),
- Suivre les génotypes responsables des infections précancéreuses ou cancéreuses du col de l'utérus ou d'autres cancers liés aux papillomavirus et tout particulièrement identifier l'émergence éventuelle de nouveaux génotypes,
- Réaliser l'étude génétique des souches d'HPV en cas d'infection par un HPV inclus dans le vaccin chez les vaccinés (séquençage et analyse phylogénétique),
- Contribuer à la mise au point et à la standardisation de techniques sérologiques plus sensibles permettant d'évaluer le seuil protecteur d'anticorps et à l'évaluation des trousseaux sérologiques qui apparaîtraient sur le marché,
- Fournir aux laboratoires réalisant des techniques de génotypage des HPV une assistance technique et biologique permettant de garantir la qualité des résultats et organiser un contrôle de qualité dans ce but,
- Fournir à l'Institut de veille sanitaire les données nécessaires à l'évaluation de la politique vaccinale en particulier concernant le profil génotypique des HPV circulants,
- Contribuer aux études épidémiologiques menées concernant les infections HPV et les lésions précancéreuses ou cancéreuses liées aux HPV chez les immunocompétents et les immunodéficients (infectés par le VIH, greffés),
- Contribuer aux réseaux de surveillance des HPV internationaux, notamment européens,
- Contribuer, avec l'InVS, à la définition et l'évaluation des politiques de lutte contre les infections sexuellement transmissibles ainsi que contre les lésions précancéreuses et les cancers liés aux HPV,
- Contribuer à l'alerte en signalant à l'InVS tout phénomène inhabituel : apparition d'un nouveau génotype ou d'un génotype rare, augmentation de la fréquence de lésions précancéreuses ou cancéreuses liées à un génotype donné, etc.
- Contribuer à la définition des génotypes devant être inclus dans les vaccins contre les papillomavirus de seconde génération,
- Contribuer aux actions de formation continue en direction des professionnels de santé sur la problématique des infections à papillomavirus, en particulier concernant l'histoire naturelle de l'infection, son diagnostic et la signification des différents examens anatomo-pathologiques et virologiques.

Coordonnées

Centre National de Référence des papillomavirus humains

Institut Pasteur

25 rue du Dr. Roux

75724 Paris cedex 15

Tel. : 01 44 38 92 61

Fax : 01 44 38 94 84

Email : cnrhpv@pasteur.fr

Responsables scientifiques :

Prof. Simon Wain-Hobson

Tel. : 01 45 68 88 21

simon.wain-hobson@pasteur.fr

Dr. Isabelle Heard

Tel. : 01 40 61 31 39

isabelle.heard@pasteur.fr

Dr. Michel Favre

Tel : 01 45 68 87 45

michel.favre@pasteur.fr

Attaché de recherche clinique :

Mme Laurence Arowas

Tel. : 01 44 38 94 06

laurence.arowas@pasteur.fr

Techniciens :

Mme Marie-Christine Demazoin

Tel : 01 45 68 82 94

marie-christine.demazoin@pasteur.fr

M. Michaël Falguières

Tel : 01 45 68 82 94

michael.falguieres@pasteur.fr

Secrétariat :

Mme Hélène RIBIERRE

Tel. : 01 44 38 92 61

Helene.ribierre@pasteur.fr

Définition des HPV haut risque et bas risque

Les génotypes de HPV sont classés en virus à haut risque (HPV HR) et à bas risque (HPV BR) en fonction de leur association avec des cancers du col de l'utérus. Tous les génotypes de HPV qui sont reconnus comme carcinogènes pour la sphère génitale appartiennent au genre alpha. Au sein de ce genre les groupes alpha 5, alpha 6, alpha 7, alpha 9 et alpha 11 contiennent des HPV HR.

Classification des HPV selon un système standardisé de regroupement des agents carcinogènes pour l'homme

En 2009, un groupe d'experts au Centre International de Recherche sur le Cancer s'est réuni pour classer les génotypes de HPV en différentes catégories :

- Groupe 1 : haut risque, carcinogène pour l'homme
- Groupe 2A : probablement haut risque, carcinogène pour l'homme
- Groupe 2B : possiblement haut risque, carcinogène pour l'homme
- Groupe 3 : bas risque, non carcinogène pour l'homme

Cette classification est basée sur des études réalisées à l'échelle mondiale de la distribution des HPV dans les lésions de haut grade et les cancers génitaux (l'insuffisance de données épidémiologiques pour les virus appartenant aux groupes 2A et 2B ne permet pas de les considérer comme des virus oncogènes).

Le tableau 1 décrit le potentiel oncogène des HPV muqueux.

Tableau 1 : Classification des HPV muqueux en fonction de leur potentiel oncogène

Type	Espèce au sein du groupe alpha	Considéré comme HPV	Groupe agents carcinogènes	Commentaires
6	10	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
11	10	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
16	9	haut risque	1	HPV oncogène le plus puissant. Risque de cancer accru par rapport aux autres HPV HR
18	7	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
26	5	possiblement haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
31	9	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
33	9	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
35	9	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
39	7	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
40	8	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
42	1	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
43	8	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
44	10	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
45	7	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
51	5	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
52	9	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
53	6	possiblement haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
54	13	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
55	10	bas risque	3	sous-type du HPV44

Type	Espèce au sein du genre alpha	Considéré comme HPV	Groupe agents carcinogènes	Commentaires
56	6	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
58	9	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
59	7	haut risque	1	Evidence suffisante pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
61	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
62	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
64	11	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
66	6	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
67	9	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
68	7	probablement haut risque	2A	Classé haut risque sur la base d'études mécanistiques
69	5	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
70	7	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
71	15	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
72	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
73	11	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
74	10	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
81	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
82	5	peut-être haut risque	2B	Evidence limitée pour un rôle dans le cancer du col de l'utérus
83	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
84	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques
HPV IS139	5	peut-être haut risque	2B	Sous type du HPV82
CP6108	3	bas risque	3	Absence de potentiel oncogène dans les études épidémiologiques et mécanistiques

Ce tableau a été élaboré à partir des sources suivantes :

De Villiers E-M. *et al.* (2004) Classification of papillomavirus. *Virology* 324:17-27

Bouvard V *et al.* (2009) Special Report: Policy – A review of human carcinogens – part B: biological agents. *Lancet Oncol.*10(4) : 321-322.

Schiffman M. *et al.* (2009) Classification of weakly carcinogenic Human Papillomavirus types: addressing the limits of epidemiology at the borderline. *Infect Agent Cancer*, Jun 1 ; 4-8

Bernard U. *et al.* (2010) Classification of papillomaviruses based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401:40-79.

Li N. *et al.* (2011) Human Papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: Variation by geographical region, histological type and year of publication. *International Journal of Cancer* 128:927-935.

Envoi d'échantillons au CNR HPV

Modalités d'envoi :

Conditionnement des prélèvements :

- Les frottis doivent être placés dans 5 à 10 ml de milieu de transport compatible avec la biologie moléculaire.
- Les biopsies et grattages doivent être transportées dans un flacon contenant 5 ml à 10 ml de milieu de culture pour cellules (type MEM, RPMI ou autre), fourni par les laboratoires de microbiologie.

Fiche de renseignements cliniques (voir p.17) :

- Fiche disponible sur le site internet de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr>),
- A remplir impérativement avant d'adresser un prélèvement.

Conditions financières :

- Le génotypage des HPV est réalisé à titre gratuit.
- Le transport des échantillons biologiques est à la charge du demandeur.

Les prélèvements sont à adresser à température ambiante à :

Institut Pasteur
Centre National de Référence des papillomavirus humains
25-28 rue du Dr Roux
75724 Paris Cedex 15

Les envois de matières infectieuses sont soumis à la réglementation du transport des matières dangereuses. Cette réglementation impose des obligations en matière d'emballage, d'étiquetage et de transport. Tout transport de matériels biologiques potentiellement infectieux demeure sous l'entière responsabilité de l'expéditeur.

Des modèles de documents de transports et d'étiquettes réglementaires sont disponibles sur le site internet de l'Institut Pasteur (<http://www.pasteur.fr>).

Transmission des résultats

Pour chaque demande d'expertise, un rapport écrit est envoyé au demandeur dans un délai de 15 jours. Pour un avis ou une interprétation des résultats rendus, le Dr Isabelle Heard ou le Dr Michel Favre peuvent être contactés à l'adresse mentionnée au début du document.

Tests HPV réalisés au CNR HPV

Tests HPV utilisés pour les expertises

Pour l'identification d'infection par les HPV, le CNR effectue le génotypage du ou des HPV à partir de cellules obtenues par écouvillonnage ou lavage de sites anatomiques et à partir de biopsies.

La méthode de génotypage proposée comporte l'extraction des ADN des prélèvements à l'aide de la trousse commerciale NucleoSpin (Macherey Nagel), l'amplification des séquences virales par PCR et l'identification des HPV avec la trousse PapilloCheck (Greiner BioOne). Cette trousse permet l'identification de 18 HPV haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82) et de 6 HPV bas risque (HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44).

Le CNR réalise également des techniques d'amplification-séquençage pour les HPV qui ne peuvent être identifiés par les trousse commerciales. La méthode proposée comporte l'extraction des acides nucléiques à l'aide de la trousse NucleoSpin. Les séquences virales sont ensuite amplifiées par PCR à l'aide de couples d'amorces dégénérées ou consensus (MY09/11, GP5+/6+, FAP56/59, CP65/70, CP66/69). La présence de produits d'amplification est vérifiée par électrophorèse en gel d'agarose et les amplimères sont séquencés. Le génotypage viral est effectué à l'aide du logiciel BLAST par recherche d'homologie avec des séquences d'ADN disponibles dans des banques de données internationales.

Un génotypage peut également être réalisé à partir des acides nucléiques extraits à partir de coupes de lésions incluses dans de la paraffine.

Tests pour les études épidémiologiques

Pour les études de distribution des HPV au niveau du col de l'utérus, le CNR utilise la trousse PapilloCheck (Greiner BioOne).

Variabilité génétique du HPV16

Afin d'identifier les souches de HPV16 circulant en France et susceptibles d'avoir des propriétés biologiques et antigéniques distinctes, le CNR caractérise les différents isolats présents dans les frottis cervico utérins. Cette identification comporte l'amplification de régions du génome viral correspondant à la longue région de régulation, à l'oncogène E6 et au gène de capsid L1. Les différents amplimères sont ensuite séquencés et les variants sont identifiés par comparaison de leur séquence avec celles présentes dans les banques de données.

Les géotypes HPV détectés avec les principales trousse commerciales

Trousses de détection

Les géotypes de HPV HR recherchés avec les principales trousse commerciales de détection sont rapportés dans le tableau 2. Tous ces tests sont basés sur la recherche des ADN de HPV HR à l'exception du test Aptima qui met en jeu l'expression du génome viral sous forme d'ARN. Les trousse Cobas 4800 et RT HR HPV correspondent à des tests combinés permettant la détection de 14 HPV HR et l'identification des HPV16 et 18.

Tableau 2. Trousses commerciales de détection des HPV HR et sensibilité sur les ADN des HPV 16 et 18

Trousse	Méthode	HPV HR recherchés	Seuil de détection (nombre de copies d'ADN)	
			HPV16	HPV18
Amplicor (Roche)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68	25	25
Cervista (Hologic)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	1 250	1 250
Cobas 4800 (Roche)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	300	300
Hybrid Capture test HC2 (Qiagen)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68	5 000	5 000
RT HR HPV (Abbott)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	500	500
Aptima (Hologic)	ARN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	100	100

Trousses de géotypage

Les géotypes d'HPV HR et BR identifiés avec les trousse de géotypage sont mentionnés dans le tableau 3. Tous les tests de géotypages sont basés sur la détection des ADN viraux sauf le test Nuclisens qui met en jeu la détection et l'identification des ARN viraux.

Tableau 3. Principales trousse commerciales de géotypage des HPV et sensibilité sur les ADN de HPV16 et 18

Trousse	Méthode	HPV HR géotypés	HPV BR géotypés	Seuil de détection (nombre de copies d'ADN)	
				HPV16	HPV18
Clart HPV2 (Genomica)	ADN	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82, 85	6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84, 89	50	50
Genotyping LQ (Qiagen)	ADN	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82,		NR*	NR
INNO-LiPA (Innogenetics)	ADN	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82	6, 11, 40, 43, 44, 54, 69, 71, 74	20	20
Linear Array (Roche)	ADN	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82	6, 11, 40, 42, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 71, 72, 81, 83, 84, IS39, CP108	50	145
Multiplex HPV genotyping kit (Multimetrix)	ADN	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82	6, 11, 42, 43, 44,	NR	NR
PapilloCheck (Greiner BioOne)	ADN	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82	6, 11, 40, 42, 43, 44, 55	50	50
Nuclisens (Biomérieux)	ARN	16, 18, 31, 33, 45		260	6 400

*NR : Non renseigné par le fabricant.

Les tableaux 2 et 3 ont été élaborés à partir des notices des trousse consultées le 1er octobre 2012.

Facteurs affectant les résultats du test HPV

La détection et le génotypage des HPV présents au niveau du col de l'utérus se fait à partir de cellules prélevées par frottis et déposées dans un flacon contenant un milieu de transport cellulaire et/ou virologique qui est adressé au laboratoire. De nombreux milieux de transport ont été développés pour permettre des analyses cytologiques des cellules issues des frottis cervico utérins. Certains de ces milieux ne sont pas adaptés pour la détection ou le génotypage des HPV.

Certains laboratoires de microbiologie acceptent des liquides de transport cellulaire qui n'ont pas été validés avec les trousseuses utilisées pour la détection et le génotypage des HPV. Cette situation pose le problème de la qualité du résultat du test HPV.

Dans le cadre de la mise en place de l'accréditation selon la norme ISO 15189, les laboratoires qui utilisent des milieux non validés avec leurs trousseuses de détection/génotypage devront présenter les expériences qu'ils auront réalisées pour prouver la bonne conservation de l'ADN viral et cellulaire et la faisabilité d'un test de biologie moléculaire avec ces milieux.

La qualité des préparations d'acides nucléiques est un autre élément pouvant influencer le résultat des tests de détection/génotypage. En plus de l'amplification des séquences virales par PCR, la plupart des méthodes commerciales incluent l'amplification d'un gène humain en tant que contrôle de présence d'ADN cellulaire et de qualité de l'échantillon. Dès lors, si le témoin est négatif, l'échantillon sera considéré non valide.

Il convient de noter que le test « Hybrid Capture II (HC2) » ne comporte pas de contrôle interne de cellularité.

Enfin, les résultats provenant de biopsies fixées et incluses dans la paraffine doivent être considérées avec prudence car ils peuvent correspondre à de faux négatifs. On constate en effet une dégradation (fragmentation) de l'ADN viral et cellulaire pour les échantillons inclus dans la paraffine, particulièrement lorsque ceux-ci ont été gardés longtemps dans l'agent fixateur. Cette dégradation peut avoir des répercussions sur la réaction de PCR et sur la fiabilité des résultats générés par les trousseuses de détection/génotypage des HPV. Afin d'éviter cet écueil, le CNR privilégie les méthodes de génotypage basées sur une réaction de PCR engendrant des amplimères de petite taille (environ 100 paires de bases).

Démarche qualité du CNR HPV

L'Institut Pasteur est engagé dans une démarche d'accréditation pour ses centres nationaux de référence selon la norme ISO 15189. Cette démarche vise à atteindre le plus haut niveau de fiabilité exigé par les autorités sanitaires pour assurer les missions de référence de ces laboratoires experts, tout particulièrement en ce qui concerne le diagnostic microbiologique en santé humaine.

La Direction Générale de la Santé et le COFRAC considèrent que la norme n'impose pas l'établissement d'un contrat formel (au sens juridique du terme) avec chacun des laboratoires correspondants, dès lors que les modalités de coopération sont préétablies et connues des deux parties. Ces modalités concernent notamment les conditions pré-analytiques, les conditions d'acheminement des prélèvements et échantillons, les modalités et délais de communication des résultats interprétés, les modalités de conservation et de restitution des échantillons biologiques traités.

Dans le contexte de la démarche d'accréditation de l'Institut Pasteur, la mise en ligne sur le site internet du CNR du manuel de prélèvement incluant les dispositions spécifiques pour le CNR et pour chaque technique sera effectuée lors du dépôt du dossier d'accréditation du CNR auprès du COFRAC. En outre, une référence à ce matériel de prélèvement et les informations pratiques utiles seront spécifiées sur chaque rapport d'analyse.

Le CNR HPV devrait présenter son dossier au COFRAC en 2013.

Contrôles de qualité externes

Afin d'évaluer ses capacités et performances, le CNR a participé à trois contrôles de qualité externes proposés par le "WHO HPV LabNet" organisés par le "Global Reference Quality Laboratory, Malmö, Suède". Les deux premiers réalisés en 2010 et 2011 concernaient la détection et le génotypage de séquences d'ADN de HPV dans 43 préparations comportant un ou plusieurs ADN clonés à différentes concentrations.

Le CNR HPV a analysé avec succès tous les échantillons contenus dans les deux panels.

Le troisième concernait la recherche d'anticorps contre le HPV16 dans 89 sérums humains selon une technique ELISA développée par le "WHO HPV LabNet". Le CNR a analysé avec succès tous les échantillons du panel.

Organisation des opérations de contrôle national de qualité des examens de recherche du génome viral des HPV.

2010

Le CNR a réalisé en 2010 un premier contrôle de qualité externe (CQE) destiné aux laboratoires de microbiologie des centres hospitaliers régionaux et universitaires et à quelques laboratoires privés. Le but de ce CQE était d'estimer les capacités des laboratoires à détecter une infection par des HPV HR, de déterminer la capacité des différents laboratoires pratiquant le génotypage à détecter le seuil de pertinence recommandé par le « HPV LabNet » de l'OMS pour les études épidémiologiques et enfin d'évaluer les performances des différentes trousse de détection et de génotypage des HPV utilisées dans les différents laboratoires.

Les résultats de cette opération de contrôle ont montré que dans environ 90% des cas, les HPV présents dans les échantillons étaient détectés par les laboratoires.

2011

Le CNR a réalisé en 2011 une deuxième opération de contrôle en collaboration avec l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM).

Les objectifs de cette opération de contrôle intitulée 11HPV1 étaient de :

- réaliser une enquête auprès des laboratoires sur les conditions pré-analytiques de réalisation du test de détection : milieux de transport et techniques d'extraction utilisés,
- contrôler la capacité des laboratoires à détecter les génotypes 16 et 18 à différentes concentrations,
- connaître le libellé des résultats rendus au clinicien.

En complément de cette opération, les laboratoires devaient compléter un questionnaire dans lequel il leur était demandé de mentionner le ou les milieux de transport utilisés, le réactif d'extraction des acides nucléiques utilisé ainsi que le réactif de détection ou de génotypage des HPV.

Les résultats analytiques qualitatifs (positif ou négatif) et l'identification des HPV16 et HPV18 dans les échantillons proposés sont satisfaisants.

Cette opération a mis en évidence l'hétérogénéité des réponses transmises aux cliniciens.

Les résultats de ce Contrôle de Qualité Externe ont été publiés dans les Annales de l'ANSM et sont disponibles sur les sites internet de l'ANSM et du CNR HPV.

Activités de recherche au CNR HPV

Le CNR HPV est impliqué dans plusieurs études épidémiologiques consacrées à la prévalence et la distribution des HPV chez des :

- Femmes de 25 à 65 ans, dans le cadre du dépistage organisé du cancer du col de l'utérus. Cette étude qui se termine en décembre 2012 devrait permettre de définir l'écologie virale en population générale.
- Jeunes femmes de 18 à 20 ans vaccinées ou non entrant à l'université (projet DyPAVIR). Les résultats de cette étude permettront d'étudier l'écologie virale dans le contexte de la vaccination dans une population à haut risque d'infection. Cette étude pourrait révéler un échappement à la vaccination ou un remplacement des virus ciblés par cette vaccination.
- Jeunes filles immunosupprimées à la suite d'une greffe ou atteintes de lupus (projet PRIMAVERA). La vaccination de ces patientes devrait renseigner sur la tolérance et l'immunogénicité du vaccin dans ce contexte.
- Hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes et non infectés par le VIH (projet IPERGAY). Cette étude devrait permettre d'évaluer la distribution des HPV au niveau de l'anus et de la cavité buccale dans une population à risque d'infection.

En outre, le CNR participe à une étude destinée à identifier le ou les agents responsables des lésions pré-malignes et les cancers de la cavité orale (projet INECOC).

Activités d'information du grand public

Le CNR HPV avait, parmi ses missions, celle de mettre en place un site Internet permettant la mise à disposition d'informations sur les papillomavirus humains. Ce site est destiné au grand public et permet de répondre à des questions d'ordre général sur l'infection par les HPV, ses modes d'acquisition, ses conséquences. Il peut aussi être utilisé par des étudiants pour la rédaction de dossiers scolaires ou universitaires. Un espace de FAQ a été mis en place.

Le site a une accréditation HON (Health On the Net).

L'adresse du site est : <http://www.info-hpv.fr>

Il comprend également un espace dédié aux professionnels de santé qui reprend des documents élaborés par les agences nationales de santé concernant la prévention du cancer du col de l'utérus par le dépistage et la vaccination, les recommandations de prise en charge d'un frottis anormal, ainsi que les données épidémiologiques nationales sur le cancer du col. Les documents sont classés par ordre chronologique dans les dossiers suivants : dépistage du cancer du col de l'utérus, conduite à tenir devant un frottis anormal, le cancer du col de l'utérus, les vaccins contre les papillomavirus humains.

Les documents relatifs aux contrôles de qualité externe organisés par le Centre National de Référence des papillomavirus humains en partenariat avec l'ANSM sont également en consultation libre dans cet espace du site info-hpv.fr.

Fiche de renseignements cliniques à joindre à une expertise



INSTITUT PASTEUR
Centre National de Référence des papillomavirus humains
Dr. Michel FAVRE, Dr. Isabelle HEARD



LABORATOIRE DEMANDEUR	PATIENT
Hôpital/Laboratoire :	Nom :
Service :	Prénom :
Médecin :	Sexe : <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
Adresse :	Date de naissance :
Tel : Fax :	Département de résidence :

DEMANDE D'EXPERTISE DE GENOTYPAGE DES HPV

PRELEVEMENT		
ANOGENITAL	CUTANE	ORAL
<input type="checkbox"/> col <input type="checkbox"/> vulve <input type="checkbox"/> vagin <input type="checkbox"/> anus <input type="checkbox"/> pénis <input type="checkbox"/> autre : ...	localisation :	<input type="checkbox"/> oropharynx <input type="checkbox"/> autre : ...
Date du prélèvement :		
Nature : <input type="checkbox"/> biopsie <input type="checkbox"/> grattage <input type="checkbox"/> frottis <input type="checkbox"/> autre : ...		Milieu de transport :
MOTIF DE LA DEMANDE		
RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE/ LA PATIENT(E)		
Vaccination HPV : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non si oui, nom du vaccin: <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> inconnu		
complète : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non		
date de la dernière injection :		
Facteurs d'immunosuppression : <input type="checkbox"/> VIH <input type="checkbox"/> Transplantation <input type="checkbox"/> corticothérapie <input type="checkbox"/> autre : ...		
RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LE PRELEVEMENT GENITAL FEMININ		
Frottis :	résultat : <input type="checkbox"/> Normal <input type="checkbox"/> ASC-US <input type="checkbox"/> ASC-H	<input type="checkbox"/> Bas grade (LSIL) <input type="checkbox"/> Haut grade (HSIL) <input type="checkbox"/> Carcinome
date :		
Biopsie :	résultat : <input type="checkbox"/> Normale <input type="checkbox"/> CIN 1 <input type="checkbox"/> CIN 2 <input type="checkbox"/> CIN 3/ in situ	<input type="checkbox"/> micro invasif <input type="checkbox"/> invasif
date :	Carcinome épidermoïde : <input type="checkbox"/> in situ <input type="checkbox"/> invasif	Adénocarcinome : <input type="checkbox"/> in situ <input type="checkbox"/> invasif
Antécédents cliniques :		
Traitement chirurgical antérieur : <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> si oui, date :		
Nature :	<input type="checkbox"/> vaporisation laser <input type="checkbox"/> conisation <input type="checkbox"/> hystérectomie	
Résultat :	<input type="checkbox"/> CIN 1 <input type="checkbox"/> CIN 2 <input type="checkbox"/> CIN 3/ in situ	
Carcinome	<input type="checkbox"/> micro invasif <input type="checkbox"/> invasif	
Adénocarcinome	<input type="checkbox"/> in situ <input type="checkbox"/> invasif	
RENSEIGNEMENTS POUR UN PRELEVEMENT CUTANE		
<input type="checkbox"/> suspicion d'épidermodysplasie verruciforme <input type="checkbox"/> consanguinité dans la famille		
<input type="checkbox"/> autre : ...		
RENSEIGNEMENTS POUR UN PRELEVEMENT DES VOIES AERODIGESTIVES SUPERIEURES		
Biopsie :	<input type="checkbox"/> hyperplasie épithéliale focale <input type="checkbox"/> papillomatose <input type="checkbox"/> leucoplasie <input type="checkbox"/> cancer	
<input type="checkbox"/> autre : ...		

Fiche à retourner à :

Institut Pasteur, CNR des papillomavirus humains - 25 rue du Dr. Roux, 75724 PARIS Cedex 15.
Tél: 01 44 38 92 61 ; Fax: 01 44 38 94 84 ; E-mail : cnrhpv@pasteur.fr