

**NOTE DE CADRAGE**

# Conditions de réalisation de la détection des papillomavirus humains (HPV)

**Juin 2012**

Cette note de cadrage est téléchargeable sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)

**Haute Autorité de Santé**

Service documentation – Information des publics  
2, avenue du Stade de France – F 93218 Saint-Denis La Plaine CEDEX  
Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00 – Fax : +33 (0)1 55 93 74 35

# Sommaire

Abréviations et symboles.....	4
Préambule .....	5
<b>1. Synthèse.....</b>	<b>6</b>
<b>2. Présentation de la saisine.....</b>	<b>8</b>
2.1 Demandeur.....	8
2.2 Motivations du demandeur .....	8
2.3 Enjeu.....	8
<b>3. Présentation du thème .....</b>	<b>9</b>
3.1 Contexte médical.....	9
3.2 Techniques de recherche des HPV .....	12
3.3 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie .....	19
3.4 Contexte réglementaire .....	20
3.5 Éléments professionnels et organisationnels.....	20
<b>4. L'évaluation.....</b>	<b>21</b>
4.1 Objectifs de l'évaluation.....	21
4.2 Champs d'évaluation et questions à traiter .....	21
4.3 Base documentaire disponible .....	21
4.4 Étapes étudiées.....	21
<b>5. Modalités de réalisation .....</b>	<b>23</b>
5.1 Titre retenu pour l'évaluation.....	23
5.2 Méthode de travail .....	23
5.3 Documents à produire .....	23
5.4 Plan de communication et diffusion .....	24
5.5 Calendrier prévisionnel.....	24
<b>6. Validation .....</b>	<b>25</b>
6.1 Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMETS).....	25
6.2 Collège.....	25
Annexe 1. Recherche bibliographique .....	26
Annexe 2. Références bibliographiques .....	29
Annexe 3. Liste des tableaux.....	31
Fiche descriptive .....	32

## Abréviations et symboles

<b>ADN</b>	.....	Acide désoxyribonucléique
<b>AGC</b>	.....	Atypies des cellules glandulaires
<b>ANAES</b>	....	Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé
<b>ANSM</b>	.....	Agence nationale de sécurité du médicament
<b>ARN</b>	.....	Acide ribonucléique
<b>ARNm</b>	.....	Acide ribonucléique messager
<b>ASC</b>	.....	<i>Atypical Squamous Cell</i>
<b>ASC-H</b>	.....	<i>Atypical Squamous Cell cannot exclude HSIL</i>
<b>ASC-US</b>	....	<i>Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance</i>
<b>BR</b>	.....	Bas risque
<b>CIN</b>	.....	<i>Cervical Intraepithelial Neoplasia</i>
<b>CNR</b>	.....	Centre national de référence
<b>FCU</b>	.....	Frottis cervico-utérin
<b>GBEA</b>	.....	Guide de bonne exécution des analyses
<b>HAS</b>	.....	Haute Autorité de Santé
<b>HPV</b>	.....	<i>Humanpapilloma Virus</i>
<b>HPV BR</b>	...	HPV bas risque
<b>HPV HR</b>	...	HPV haut risque
<b>HSIL</b>	.....	<i>High Grade Squamous Intraepithelial Lesion</i> (ou LHG)
<b>ICC</b>	.....	<i>Invasive Cervical Cancer</i>
<b>INVS</b>	.....	Institut national de veille sanitaire
<b>IST</b>	.....	Infection sexuellement transmissible
<b>LSIL</b>	.....	<i>Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion</i> (ou LBG)
<b>RNAses</b>	...	Ribonucléases
<b>TMA</b>	.....	<i>Transcription-Mediated Amplification</i>

## Préambule

### Finalités & méthode

Le cadrage est une étape systématique qui marque le début de la procédure d'évaluation. Il doit garantir la pertinence de cette évaluation et exige pour ce faire d'appréhender les principales dimensions de la technologie de santé à évaluer. Le cadrage s'intéresse ainsi à ses dimensions médicales (qualité et sécurité des soins), organisationnelles, professionnelles ou encore économiques. Sont ainsi examinés :

- les motivations, enjeux et finalités de la saisine adressée à la HAS ;
- le contexte médical de cette demande (maladie(s) impliquée(s), population cible, stratégie de prise en charge en vigueur, procédures de référence et alternatives proposées, organisation des soins) ;
- la technologie de santé à évaluer (déterminants techniques, bénéfices et risques attendus) ;
- les contextes réglementaire et économique (concertation systématique réalisée à cette étape avec le service évaluation économique et santé publique de la HAS).

### Note de cadrage

La note de cadrage est le document qui synthétise l'ensemble de l'analyse menée durant cette phase initiale. Cette note précise le périmètre du sujet, formule les questions d'évaluation devant être traitées et prévoit les moyens et les méthodes pour y répondre. Sont ainsi définis :

- les critères d'évaluation (critères d'efficacité, de sécurité, aspects organisationnels, etc.) ;
- la stratégie de recherche bibliographique à mener en conséquence ;
- la méthode d'analyse des données (revue systématique descriptive, méta-analyse, enquête, etc.) ;
- les éventuels collaborateurs conjointement investis de cette évaluation (autre service de la HAS, institution extérieure) ;
- le calendrier d'évaluation (dates de début d'évaluation et de publication de l'avis HAS).

### Consultations réalisées

Une recherche documentaire initiale a permis d'identifier les principales données de synthèse publiées (revues systématiques, méta-analyse, recommandations de bonne pratique, rapports antérieurs d'évaluation technologique ou encore articles de synthèse). Une analyse préliminaire de ces publications en a dégagé et synthétisé les points clés utiles à cette phase de cadrage.

### Validation et diffusion

La note de cadrage est examinée par la CNEDiMTS, puis validée par le Collège de la HAS. Elle est alors diffusée sur le site Internet de la HAS.

## 1. Synthèse

Les HPV sont de petits virus nus, constitués d'une capsidie icosaédrique de 55 nm de diamètre et d'un ADN bicaténaire et circulaire de 8 000 paires de bases. Ils appartiennent à la famille des *Papillomaviridae*. Ils sont classés en types et sous-types, basés sur le degré d'homologie des séquences nucléotidiques.

Cent quatre vingt neuf génotypes d'HPV ont été caractérisés à l'heure actuelle, dont 120 sont susceptibles d'infecter l'homme et 40 ont un tropisme spécifiquement génital. Ils sont classés en deux types alpha et bêta et en groupes. Au sein des HPV alpha, se distinguent le groupe 1, qui comprend les HPV oncogènes, les groupes 2A et 2B, HPV probablement et possiblement oncogènes respectivement et le groupe 3 les HPV non oncogènes. Parmi les HPV bêta, on retrouve les groupes 2B (possiblement oncogènes) et 3 (non oncogènes).

Les HPV ont un tropisme exclusif pour les cellules métaplasiques des jonctions des épithéliums malpighiens et glandulaires et induisent un effet cytopathogène caractéristique avec transformation des kératinocytes en koilocytes. Ils sont responsables de lésions cutanées, orales, laryngées et ano-génitales chez l'homme et la femme, généralement bénignes, mais peuvent également être à l'origine de l'apparition de cancers, en particulier du cancer du col de l'utérus.

Chez la femme, les HPV sont transmis par contact sexuel, le plus souvent lors des premiers rapports et l'existence d'une infection persistante par HPV à haut risque oncogène est considérée comme la cause principale du cancer du col de l'utérus. L'histoire naturelle du cancer du col est le plus souvent un processus lent.

La classification anatomopathologique des cancers invasifs distingue trois types : les carcinomes épidermoïdes qui représentent 80 à 95 % des tumeurs malignes du col, les adénocarcinomes et des tumeurs rares (sarcomes, mélanomes, autres cancers). Le cancer du col de l'utérus occupe le 2<sup>ème</sup> rang en fréquence des cancers de la femme dans le monde et est la première cause de mortalité par cancer dans les pays en voie de développement. En 2000, en France, il se situait au 8<sup>ème</sup> rang des cancers de la femme en termes d'incidence et au 5<sup>ème</sup> rang en termes de mortalité. En Amérique du Nord et en Europe, 70 % des cancers du col sont associés à l'HPV 16, les autres types les plus fréquents étant les HPV 18, 31 et 45. Selon les études, le HPV a été retrouvé dans 93 à 99,7 % des cancers.

La stratégie de prévention regroupe la prévention primaire avec la vaccination des jeunes filles de 14 ans et la démarche de prévention secondaire avec le dépistage. Ce dernier est fondé sur la réalisation d'un FCU conventionnel ou en milieu liquide à un rythme triennal entre 25 et 65 ans, après deux FCU normaux réalisés à un an d'intervalle chez les femmes asymptomatiques ayant ou ayant eu une activité sexuelle. La répétition des FCU se justifie par le manque de sensibilité d'un seul FCU (63 % dans l'étude de Fahey *et al.* (1)) et l'évolution lente et fluctuante de la maladie.

La mise en œuvre du test pour la détection des HPV en dépistage primaire en population générale est actuellement prématurée (2). Le diagnostic virologique est recommandé et pris en charge par l'Assurance maladie uniquement en cas de FCU ASC-US.

Les techniques nécessitent trois étapes :

- la réalisation, le conditionnement et l'acheminement du prélèvement ;
- la libération de l'ADN ;
- la détection des acides nucléiques.

L'intérêt de la recherche des transcrits d'ARNm viraux ou la détection de la protéine cellulaire p16 n'ont pas été démontrés à ce jour.

D'après une étude de l'ANSM et du CNR (publiée prochainement), il existe une grande diversité d'utilisation des tests puisque 16 différents étaient dénombrés en 2011, dont 12 correspondaient à

des trousse commerciales. Les échantillons de FCU sont transmis en majorité par les laboratoires d'anatomo-cytopathologie qui définissent le milieu de transport de l'échantillon et vérifient la conformité du prélèvement. Un même laboratoire de virologie peut être amené à travailler avec plusieurs laboratoires d'anatomo-cytopathologie qui peuvent utiliser des milieux de transport différents. Ces derniers ne sont pas forcément validés pour la technique de détection qu'ils emploient, surtout s'ils ne disposent que d'une seule technique.

Les objectifs de cette évaluation sont d'identifier les bonnes pratiques de réalisation (prélèvement, libération des acides nucléiques, détection des HPV) permettant de garantir la qualité des résultats des technique de recherche et d'évaluer l'impact du non-respect des bonnes pratiques en termes de sensibilité de détection des HPV, de fréquence des prélèvements à cellularité insuffisante et de fréquence des inhibitions de la PCR.

## **2. Présentation de la saisine**

### **2.1 Demandeur**

Le Centre national de référence (CNR) des papillomavirus humains (*Human Papillomavirus* - HPV) a saisi la Haute Autorité de Santé (HAS) en mars 2011 en vue d'évaluer « les bonnes pratiques de réalisation du test HPV ».

### **2.2 Motivations du demandeur**

Le CNR des HPV a réalisé une étude auprès de laboratoires pratiquant des examens de détection et/ou de génotypage des HPV. Cette étude a montré que près de la moitié des laboratoires de microbiologie pratique la détection des HPV à haut risque dans des conditions qui ne sont pas conformes au Guide de bonnes exécution des analyses (GBEA) (3, 4). Ces non-conformités concernent principalement la phase pré-analytique, soit parce que les liquides de transport cellulaire utilisés sont des liquides « maison » sans marquage CE, soit parce que les liquides utilisés ont le marquage CE mais n'ont pas été validés par les trousse de détection et/ou de génotypage utilisées.

Ceci pose la question de la qualité du résultat du test de détection et/ou de génotypage des HPV.

### **2.3 Enjeu**

L'enjeu de cette évaluation est d'améliorer la qualité des pratiques des tests de détection des HPV.



## 3. Présentation du thème

### 3.1 Contexte médical

#### 3.1.1 Les virus HPV

Les HPV sont de petits virus nus, constitués d'une capsidie icosaédrique de 55 nm de diamètre et d'un ADN bicaténaire et circulaire de 8 000 paires de bases. Ils appartiennent à la famille des *Papillomaviridae*. Ils sont classés en types et sous-types, basés sur le degré d'homologie des séquences nucléotidiques. Cent quatre vingt neuf génotypes d'HPV ont été caractérisés à l'heure actuelle, dont 120 sont susceptibles d'infecter l'homme. Parmi ceux-ci, 40 ont un tropisme spécifiquement génital (5).

Les HPV ont un tropisme exclusif pour les cellules métaplasiques des jonctions des épithéliums malpighiens et glandulaires et induisent un effet cytopathogène caractéristique avec transformation des kératinocytes en koïlocytes. Ils sont responsables de lésions généralement bénignes, mais peuvent être à l'origine de l'apparition de cancers. Cette capacité de certains types d'HPV à induire des cancers est liée à l'expression de deux gènes précoces, E6 et E7, dont les produits sont capables de se lier aux protéines dites « supprimeurs de tumeurs » p53 et pRB. L'expression de ces gènes est nécessaire au déclenchement du cancer. Dans les néoplasies intra-épithéliales induites par les HPV oncogènes, l'ADN viral est intégré dans les noyaux des kératinocytes transformés et la réplication virale est très faible (6).

Les HPV sont classés en deux types : alpha et bêta. Au sein des HPV alpha, quatre groupes regroupant plusieurs types d'HPV ont été différenciés (classification d'après IARC *Monograph Working Group*, 2009) (7) :

- groupe 1 (oncogènes) : HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 et 59 ;
- groupe 2A (probablement oncogènes) : HPV 68 ;
- groupe 2B (possiblement oncogènes) : HPV 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85, 97 ;
- groupe 3 (non classables comme oncogènes) : HPV 6 et 11.

Parmi les HPV bêta, on retrouve deux groupes regroupant plusieurs types d'HPV :

- groupe 2B (possiblement oncogènes) : HPV 5 et 8 ;
- groupe 3 (non classables comme oncogènes) : qui comprennent d'autres HPV.

Ils seraient possiblement impliqués dans des cancers chez des patients présentant une épidermodysplasie verruciforme (7).

#### 3.1.2 Cancer du col de l'utérus

##### ► Histoire naturelle

Une infection persistante par HPV à haut risque oncogène est considérée comme la cause principale du cancer du col de l'utérus. Ce virus est transmis par contact sexuel, le plus souvent lors des premiers rapports (8).

Ces infections sont communes tout au long de la vie adulte chez les femmes sexuellement actives, mais disparaissent le plus souvent spontanément, sans signe clinique. La clairance virale est importante : la moitié des nouvelles infections à HPV sont indétectables en 6 à 12 mois et plus de 90 % à 3 ans (9, 10).

L'histoire naturelle du cancer du col est le plus souvent un processus lent. Elle est étroitement liée à l'histoire de l'infection à papillomavirus (11).

La classification anatomopathologique des cancers invasifs distingue trois types :

- les carcinomes épidermoïdes qui représentent 80 à 95 % des tumeurs malignes du col ;
- les adénocarcinomes ;
- des tumeurs rares (sarcomes, mélanomes, autres cancers) (11).

Le carcinome épidermoïde du col utérin est généralement l'aboutissement d'un processus se déroulant sur plusieurs décennies, sous l'effet de la persistance de l'infection virale, qui débute par des lésions de bas grade (CIN1 : Cervical Intraepithelial Neoplasia ou LSIL : *Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion*). Cette infection persistante est retrouvée chez 3 à 10 % des femmes infectées.

L'histoire naturelle du carcinome épidermoïde est habituellement décrite comme comprenant différents stades de transformation de l'épithélium malpighien avec des lésions néoplasiques intra-épithéliales (*Cervical Intra-epithelial Neoplasia* ou CIN) classées en trois grades 1, 2 et 3 (CIN1, CIN2 et CIN3) selon la hauteur de l'atteinte de l'épithélium (11). Bien que la clairance virale soit fréquente au stade CIN1 et que plus de la moitié de ces lésions régressent, l'infection persistante peut entraîner une évolution vers des lésions plus sévères (CIN2-3 ou HSIL : *High Grade Squamous Intraepithelial Lesion*) et des cancers invasifs (11).

Les lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade (HSIL) regroupent les dysplasies modérées et sévères (CIN2 et CIN3) et les carcinomes in situ. Elles risquent d'évoluer vers le cancer invasif, si elles ne sont pas traitées, mais peuvent régresser (11).

Selon certains auteurs, les lésions de bas grade (LSIL ou CIN1) seraient des manifestations non évolutives de l'infection à HPV et les lésions plus sévères (HSIL ou CIN2-3) seraient des lésions précancéreuses de novo causées par une infection par des HPV à haut risque (12). Il semble qu'au moins une partie des CIN2-3 ne se développe pas à partir des CIN1, mais s'établisse de novo, suite à une infection HPV. Il est donc possible que les CIN1 et les CIN3 soient des manifestations distinctes d'infections avec des types différents d'HPV. Une autre possibilité serait que les CIN1 et les CIN2-3 soient des lésions concomitantes, mais avec des localisations et des caractéristiques de croissance différentes et, par conséquent, avec une probabilité différente de détection par cytologie (12).

L'histoire naturelle de l'adénocarcinome est peu connue. Il est possible que le modèle habituellement évoqué pour le carcinome épidermoïde ne soit pas applicable à l'adénocarcinome. Les lésions précancéreuses glandulaires sont rares et plus difficiles à dépister par la cytologie (13). Cependant, le lien de causalité entre la survenue d'un adénocarcinome du col et une infection à HPV a été également démontré (14).

L'étude française EDITH a analysé la distribution des génotypes HPV responsables de cancers invasifs du col de l'utérus et de lésions de grade intermédiaire et de haut grade (CIN2-3). La proportion de cancers invasifs du col de l'utérus attribuables aux génotypes HPV les plus fréquents (16 et 18) variait de 71 % à 81,8 %. Les huit HPV les plus fréquemment responsables d'un cancer invasif du col de l'utérus en France étaient par ordre de fréquence : 16, 18, 31, 33, 68, 45, 52, 58 (15, 16).

Une méta-analyse réalisée sur 85 études (publiées jusqu'en février 2002) ayant pour objectif d'estimer la prévalence des HPV dans le cancer du col au niveau international a montré que sur 10 058 cas de cancer, le type histologique était connu dans 73 % des cas. L'HPV 16 a été identifié dans 55 % des carcinomes malpighiens et 31 % des adénocarcinomes. L'HPV 18 était plus fréquemment isolé dans les adénocarcinomes (37,7 %) que dans les carcinomes malpighiens (12,3 %) (11).

## ► Épidémiologie

Le cancer du col de l'utérus occupe le 2<sup>ème</sup> rang en fréquence des cancers de la femme dans le monde et constitue la première cause de mortalité par cancer dans les pays en voie de

développement. En 2000, en France, il se situait au 8<sup>ème</sup> rang des cancers de la femme en termes d'incidence et au 5<sup>ème</sup> rang en termes de mortalité. En Amérique du Nord et en Europe, 70 % des cancers du col sont associés à l'HPV 16, les autres types les plus fréquents étant les HPV 18, 31 et 45. Selon les études, le HPV a été retrouvé dans 93 à 99,7 % des cancers (11).

Au plan mondial, le cancer du col de l'utérus a été responsable de 275 000 décès et 530 000 nouveaux cas ont été recensés en 2008 (85 % dans les pays en développement) d'après le Centre international de recherche sur le cancer (17, 18).

Au sein de l'Union européenne, 30 400 femmes sont touchées et la mortalité est estimée à 4,7 %. En France, 3 387 et 3 070 nouveaux cas de cancer du col de l'utérus ont été recensés respectivement pour l'année 2000 et l'année 2005. L'incidence est croissante à partir de l'âge de 20 ans et le pic est à 40 ans. Cependant, l'épidémiologie de ces cancers évolue et le risque cumulé de développer un cancer du col de l'utérus avant 74 ans a considérablement diminué avec l'année de naissance : 3,6 % chez les femmes nées en 1910 et 0,6 % chez les femmes nées en 1950 (17, 19). En France, en 2000, le cancer du col représentait 2,9 % de l'ensemble des nouveaux cas de cancers chez les femmes (estimé à 3 387 nouveaux cas, 8<sup>ème</sup> rang des cancers féminins). La répartition par âge de l'incidence des cancers invasifs indiquait une fréquence croissante à partir de 20 ans, jusque vers 40-44 ans (20 cas pour 100 000), suivie d'une diminution jusqu'à 50 ans, puis d'une stabilisation jusqu'aux âges les plus élevés (17 cas pour 100 000). L'âge moyen du diagnostic était de 51 ans. La mortalité par cancer du col était très faible chez les femmes de moins de 30 ans, elle augmentait ensuite régulièrement et atteignait 15 décès pour 100 000 chez la femme de 85 ans et plus. En 2000, le nombre total de décès était estimé à 1 000 par an (11).

### ► Stratégie de prévention

Les vaccins anti-HPV s'inscrivent dans le cadre d'une démarche de prévention primaire. Deux vaccins ont une autorisation de mise sur le marché en France : CERVARIX, dirigé contre les HPV 16 et 18 et GARDASIL, dirigé contre les HPV 6, 11, 16 et 18. Le Haut conseil de santé publique recommande la vaccination chez les jeunes filles de 14 ans (avis rendu le 9 mars 2007 par le Comité technique des vaccinations et le Conseil supérieur d'hygiène publique de France). Un rattrapage vaccinal peut être proposé aux jeunes femmes de 15 à 23 ans n'ayant pas encore eu de rapport sexuel ou ayant débuté une sexualité dans l'année.

Le dépistage s'inscrit dans une démarche de prévention secondaire. Les recommandations actuelles de dépistage se fondent sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) conventionnel ou en milieu liquide à un rythme triennal entre 25 et 65 ans, après deux FCU normaux réalisés à un an d'intervalle chez les femmes asymptomatiques ayant ou ayant eu une activité sexuelle (2, 20). La répétition des FCU se justifie par le manque de sensibilité d'un seul FCU (63 % dans l'étude de Fahey *et al.*) et l'évolution lente et fluctuante de la maladie (1, 9). Une mise en œuvre du test de détection des HPV en dépistage primaire en population générale est actuellement prématurée (2).

### ► Diagnostic et traitement

L'ANAES, en 2002, a recommandé la conduite à tenir suivante en cas de frottis anormaux (20) :

- frottis ASC-H (avec atypies des cellules malpighiennes, ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade) : dans 40 % des cas CIN2 ou 3, exceptionnellement cancer invasif (ICC : *Invasive Cervical Cancer*) :
  - colposcopie ;
- frottis ASC-US (avec atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée) dans 5 à 10 % des cas CIN2 ou 3, exceptionnellement ICC :
  - trois options possibles :

- 1) colposcopie ;
  - 2) FCU de contrôle six mois plus tard ;
  - 3) Recherche d'HPV potentiellement oncogènes ;
- frottis LSIL (avec atypies lésions malpighiennes intra-épithéliales de bas grade) :
    - deux options possibles :
      - 1) colposcopie ;
      - 2) FCU de contrôle à 4-6 mois ;
  - frottis HSIL (avec atypies lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade) :
    - colposcopie d'emblée ;
  - frottis avec anomalie des cellules glandulaires :
    - colposcopie avec biopsie dirigée et/ou curetage de l'endocol.

### 3.1.3 Autres pathologies

Les HPV peuvent être impliqués dans d'autres pathologies, mais leur recherche n'est pas actuellement réalisée en pratique courante et n'est pas prise en charge par l'Assurance maladie. Ces pathologies ne seront donc pas prises en compte dans l'évaluation. Il s'agit de :

- lésions cutanées ;
- pathologies orales et laryngées (papillomes bénins de la cavité buccale ou du larynx, cancers du larynx et papillomatoses d'évolution maligne) ;
- lésions ano-génitales chez l'homme et la femme.

## 3.2 Techniques de recherche des HPV

**Le diagnostic virologique est recommandé et pris en charge par l'Assurance maladie uniquement en cas de FCU ASC-US.**

En dehors de cette indication, la recherche des HPV pour d'autres types de lésions (vulvaires, anales ou ORL, plus rarement dans les lésions cutanées) n'est pas réalisée en pratique courante et reste limitée à la recherche ou à des études épidémiologiques.

La recherche des HPV nécessite plusieurs étapes et ce quelle que soit la nature du prélèvement :

- réalisation, conditionnement et acheminement du prélèvement ;
- libération des acides nucléiques : la libération de l'ADN ou plus rarement de l'ARNm est réalisée par simple lyse cellulaire ou par extraction ;
- détection des acides nucléiques par hybridation avec amplification du signal de détection ou amplification génomique par PCR ;
- génotypage (éventuellement).

La recherche des HPV oncogènes peut consister soit en une détection seule de l'infection sans identification du/des génotypes, soit en un génotypage d'emblée, soit en deux étapes avec une détection suivie d'un génotypage en cas d'infection identifiée par le premier test. La stratégie la plus fréquemment mise en place est la seconde. Dans l'étude réalisée par le CNR, pour 18 laboratoires (54 %), la recherche des HPV consiste d'emblée en un génotypage, sans étape préalable de détection d'une infection par les HPV oncogènes. La stratégie combinée est réalisée dans 15 laboratoires (43 %) et seulement deux laboratoires ne pratiquent qu'une détection des HPV oncogènes (21).

Il existe d'autres techniques permettant de rechercher l'expression des oncogènes HPV comme la recherche des transcrits d'ARNm viraux ou la détection de la protéine cellulaire p16, mais les

données actuelles sont encore préliminaires pour conclure au rôle que pourrait jouer la recherche de ces marqueurs dans l'avenir dans le dépistage du cancer du col et des études randomisées à grande échelle sont nécessaires pour en démontrer l'intérêt (22, 23).

D'après une étude de l'ANSM et du CNR (publiée prochainement), il existe une grande diversité d'utilisation de tests puisque 16 différents étaient dénombrés en 2011, dont 12 correspondaient à des trousse commerciales.

### **3.2.1 Prélèvement**

Actuellement, la majorité des techniques de recherche des HPV sont réalisées à partir d'un FCU. Les FCU sont majoritairement conditionnés en phase liquide. Les milieux de conservation des cellules prélevées sont adaptés à la cytologie, mais peuvent être également utilisés pour la recherche du génome viral, à condition qu'ils aient été validés pour ce contexte. En effet, chaque fabricant valide un ou plusieurs milieux pour chaque trousse et ne certifie l'efficacité de la technique que dans certaines conditions de réalisation et de conservation des échantillons avant la réalisation des tests (cf. tableau 1). Si un frottis conventionnel est réalisé, un second prélèvement doit être effectué avec une cytobrosse, qui sera déchargée dans un milieu de transport permettant de pratiquer le test HPV (milieux destinés à la virologie).

La conservation du milieu en termes de température et de durée peut également avoir une influence sur la sensibilité de la détection.

Tous les milieux de conservation cités dans le tableau 1 ont un marquage CE.

La réalisation de ces prélèvements nécessite une consultation gynécologique ou au moins une visite dans un laboratoire d'analyse. Les autoprélèvements vaginaux, qui font actuellement l'objet d'études cliniques, ne seront pas pris en compte dans cette évaluation.

**Tableau 1.** Caractéristiques des milieux de conservation des cellules

Milieu de conservation, Fabricant	Trousses de détection HPV pour lesquelles le milieu de conservation est validé par le fabricant	Durée de conservation de l'ADN
<b>Milieu de conservation cytologique et virologique</b>		
PreservCyt TM (Thinprep), Hologic	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amplicor, Roche ;</li> <li>- Aptima, Gen-Probe ;</li> <li>- Cervista, Hologic ;</li> <li>- Clart, R-BioPharm ;</li> <li>- Cobas 4 800, Roche ;</li> <li>- HC II HR, Qiagen ;</li> <li>- Linear Array, Roche ;</li> <li>- NucliSENS Easy, BioMerieux ;</li> <li>- Papillocheck, Greiner Bio-One ;</li> <li>- Real Time HR HPV, Abbott ;</li> <li>- Innolipa, Innogenetics.</li> </ul>	Au moins 6 semaines à TA <sup>†</sup> , voire plus : <ul style="list-style-type: none"> <li>- 8 semaines : Amplicor ;</li> <li>- 12 semaines : Qiagen, Linear Array, Roche (+ 4°C) ;</li> <li>- 18 semaines : Cervista.</li> </ul>
CytoScreen, Seroa	- HC II HR, Qiagen.	4 semaines à TA.
AutoCyte, Microm Également sous le nom SurePath TM, BD Diagnostics	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amplicor, Roche ;</li> <li>- Cobas 4800, Roche.</li> <li>- HC II, Qiagen ;</li> <li>- HC II HR, Qiagen ;</li> <li>- Linear Array, Roche ;</li> <li>- Papillocheck, Greiner Bio-One ;</li> <li>- Innolipa, Innogenetics.</li> </ul>	4 semaines à 2-8°C.
EasyFix, Labonord Templemars	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Papillocheck, Greiner Bio-One ;</li> <li>- HC II HR, Qiagen.</li> </ul>	2 semaines à TA.
Novaprep TM, Novacyt	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Clart, R-BioPharm ;</li> <li>- HCII.</li> </ul>	8 semaines à TA.
Papillocheck TM collection medium, Qualicyt	- Papillocheck, Greiner-Bio-One.	12 semaines à TA.
Universal collection medium (UCM), Digene	- HC II HR, Qiagen.	Non renseigné.
<b>Milieux de conservation virologique</b>		
Digene STMSpecimen, Transport Medium, Qiagen	<ul style="list-style-type: none"> <li>- HC II, Qiagen ;</li> <li>- HC II HR, Qiagen ;</li> <li>- Papillocheck, Greiner Bio-One ;</li> <li>- Seeplex HPV4 ACE Screening, Seegene.</li> </ul>	2 semaines à TA. 3 semaines à + 4°C. 3 mois à - 20°C.
M4RT, Remel Inc	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inno-Lipa HPV Innogenetics ;</li> <li>- Seeplex HPV4 ACE Screening, Seegene.</li> </ul>	Non renseigné.

†TA : Température ambiante.



### 3.2.2 Libération des acides nucléiques

Les techniques d'amplification par PCR nécessitent préalablement une étape de libération des acides nucléiques (extraction ou lyse cellulaire). De nombreuses techniques sont actuellement disponibles, dont le choix dépend de l'origine du matériel clinique, du système diagnostique choisi et de l'acide nucléique extrait (ADN ou ARN). La méthode et le kit utilisés sont des éléments importants de la sensibilité finale de la technique. La majorité des techniques d'extraction utilisées à ce jour sont automatisées et suivent en principe toujours un schéma identique : lyse cellulaire par des détergents, dégradation des protéines le plus souvent par la protéinase K, puis extraction des acides nucléiques soit par des solvants organiques, soit par des agents chaotropiques, soit par fixation non spécifique sur silice.

Certaines techniques de détection de l'ADN ne sont pas précédées d'une extraction, mais simplement d'une étape de lyse.

Enfin, les techniques d'hybridation ne nécessitent pas d'extraction, mais une lyse suivie de la dénaturation de l'ADN double brin. Tel est le cas de la technique HC2 (*Hybrid Capture 2*, Qiagen).

Les réactifs d'extraction ne sont pas toujours fournis par le même fabricant que le système diagnostique (exemples : MACHEREY NAGEL NucleoSpin Tissue, PROMEGA Sample Preparation System DNA, QIAGEN Qiamp MinElute Media kit, QIAGEN DNA mini kit, QIAGEN MAG Attract DNA, ROCHE Magna Pure LC). Dans ce cas, les systèmes d'extraction et de purification des ARN et/ou des ADN ne sont pas spécifiques de la technique d'analyse HPV utilisée. Il faut alors s'assurer que le rendement d'extraction est optimal. La composition du tampon d'élution (présence d'EDTA, pH, etc.) est à prendre en considération ainsi que le volume dans lequel est repris l'extrait.

L'étude menée par le CNR des HPV a rapporté que l'étape d'extraction de l'ADN variait selon les laboratoires. La trousse Qiagen est la plus utilisée (14 des 35 laboratoires ayant répondu à l'enquête). Une extraction à l'aide de trousse (EasyMAG, Biomérieux et MagnaPure, Roche) a été rapportée par 16 laboratoires. Enfin, cinq laboratoires utilisaient des techniques d'extraction « maison ».

Les extractions d'ADN pour la recherche des HPV au niveau d'autres sites (prépuce, gland, urètre, sperme, biopsies, etc.) sont réalisées le plus souvent par des techniques indépendantes du système d'analyse et sont adaptées puis validées par chaque laboratoire.

### 3.2.3 Détection des HPV

#### ► Détection de l'ADN HPV

La détection des HPV repose principalement sur deux techniques : l'hybridation et l'amplification.

- Hybridation en phase liquide

Telle est la technique utilisée pour le kit ADN Hybrid Capture<sup>®</sup> 2 HPV-haut risque (Qiagen). Les hybrides ADN/ARN sont capturés sur des microplaques recouvertes d'anticorps spécifiques des hybrides. Une amplification du signal est ensuite réalisée à l'aide d'anticorps couplés à la phosphatase alcaline. La détection de la réaction est effectuée par chimiluminescence.

- Amplification génomique par PCR

La grande diversité des HPV a conduit à l'utilisation d'amorces à large spectre permettant l'amplification de nombreux types de virus. Ces amorces ont été choisies dans les régions les plus conservées entre les différents types d'HPV, au niveau des gènes E1, E6 (région régulatrice non codante) et L1 (région tardive codant pour les protéines de la capside). La majorité des techniques de PCR commercialisées ou « maison » utilisent des amorces consensus, dont la cible est localisée dans le gène L1 (MY09/MY11/HMB01 ou PGMY09/PGMY11, GP5+/GP6+ et SPF1/SPF2). Ceci permet d'amplifier les génotypes 36, 37 et 43 (24).

Toute PCR doit idéalement comporter l'amplification de trois types de contrôles : un contrôle positif qui valide l'amplification, un contrôle négatif qui vérifie l'absence de contamination et un gène dit « de ménage » correspondant à un élément constitutif des cellules. Le contrôle par un gène de ménage atteste de la qualité de l'échantillon (cellularité suffisante) et de l'efficacité de la procédure d'extraction et d'amplification de l'échantillon. L'absence d'inhibition de PCR est en partie validée par la PCR du gène de ménage. Mais en présence d'une grande quantité de cellules, cette PCR peut être positive alors qu'il existe une inhibition partielle de la cible. L'idéal est d'ajouter un standard interne (par exemple, une matrice d'ADN synthétique en quantité connue) à l'échantillon dans le tampon de lyse avant l'extraction et l'amplification, ce qui permet de vérifier, de façon plus sensible, l'absence d'inhibiteur.

Plusieurs tests de détection de l'ADN HPV sont actuellement commercialisés. Il existe également des techniques « maison ». D'après l'étude réalisée par le CNR, parmi les 17 laboratoires qui n'effectuent que de la détection d'ADN, huit utilisent la trousse Hybrid Capture 2 (Qiagen) et neuf une autre technique : Amplicor (Roche) ou HPV Consensus (Argene) (21).

Les caractéristiques des kits sont présentées dans le tableau 2. Tous les kits présentés dans ce tableau ont obtenu un marquage CE.

Parmi ces kits, trois permettent à la fois la détection de plusieurs types d'HPV haut risque (HR) et le génotypage spécifique des HPV 16 et 18 (Cobas 4 800 HPV test, Abbott Real Time, Seeplex HPV4 ACE Screening).



**Tableau 2.** Caractéristiques des kits de détection de l'ADN HPV commercialisés en France

Nom du kit, Fabricant	Technologie	Contrôle interne	HPV recherchés
HC2 (Hybrid Capture 2), Qiagen	Hybridation ADN/ARN capturés en microplaque avec amplification du signal par chimiluminescence	Non Témoin positif (HPV 16) Témoin négatif (HPV 6)	13 HPV HR* : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Amplicor, Roche	PCR avec amorces PGMY09/PGMY11 Hybridation sur microplaque et révélation colorimétrique	Bêta globine	13 HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
Cobas 4 800 HPV test, Roche	PCR temps réel	Bêta globine	14 HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 + Génotypage 16-18
Abbott Real Time, Abbott	PCR temps réel	Bêta globine	14 HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 + Génotypage 16-18
Seeplex HPV4 ACE Screening, Seegene	Amplification par PCR classique et détection par électrophorèse sur gel d'agarose ou électrophorèse capillaire automatisée (DPO)	Plasmide co-amplifié avec la cible	18 types d'HPV HR : 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 2 HPV BR : 6, 11 + Génotypage 16 et 18
Cervista HPV HR, Hologic	Hybridation	Histone	14 HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

\* HR : haut risque.

§ BR : bas risque.

### ► Les tests de détection de l'ARNm HPV<sup>1</sup>

Les conditions de réalisation de ces tests ne seront pas évaluées car les données actuelles sont encore préliminaires pour conclure au rôle que pourrait jouer la recherche de ces marqueurs dans l'avenir dans le dépistage du cancer du col.

### ► Génotypage des HPV

Plusieurs tests de génotypage des HPV sont actuellement commercialisés (cf. tableau 3). Il existe également des techniques « maison » par séquençage des gènes L1 ou E1.

Les tests commerciaux utilisent des techniques d'hybridation soit sur support solide (bandelettes, puces, culots sur fonds de tubes tronqués, microbilles), soit en phase liquide avec des sondes ARN. Toutes les trousse présentées dans le tableau 3 sont commercialisées en France. Elles comportent toutes une étape d'extraction de l'ADN à l'exception des kits Digène (Qiagen).

D'après l'étude réalisée par le CNR, parmi les 33 laboratoires qui réalisent le génotypage HPV, 61 % utilisent la trousse INNO-LiPA (20 laboratoires), 15 % PAPILLOCHECK TM (5 laboratoires), 15 % Linear array (5 laboratoires) et 9 % (3 laboratoires) d'autres techniques (21).

---

<sup>1</sup> La recherche d'ARN est plus délicate que celle d'ADN. Le milieu de transport doit impérativement comporter un sel chaotropique (sel de guanidinium), qui inhibe les ribonucléases (RNAses). Le prélèvement doit être placé immédiatement dans le milieu. Deux tests de détection de l'ARNm d'HPV sont utilisés en France : Aptima (Gen Probe) et NUCLISENS EASYQ HPV (Biomérieux) :

Aptima, Gen Probe ; Il s'agit d'un test par sonde d'acide nucléique pour la détection qualitative de l'ARNm viral E6/E7 pour 14 types d'HPV à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). Il ne comporte pas d'étape d'extraction, mais une lyse suivie d'une capture des ARNm. L'amplification isotherme de la cible est réalisée par TMA (*Transcription-Mediated Amplification*) qui utilise deux enzymes (transcriptase inverse et RNA polymérase T7). La détection des produits d'amplification est réalisée par test de protection de l'hybridation (*Hybridization Protection Assay*, HPA) et chimiluminescence. Le test incorpore un contrôle interne qui valide la qualité de la technique (ajout d'un transcrit RNA), mais pas celle de l'échantillon. Ce test est validé pour le milieu ThinPrep Pap contenant la solution PreservCyt, le kit de recueil et le milieu de transport APTIMA pour échantillon cervical.

Nuclisens EasyQ® HPV, Biomérieux : Ce test détecte les ARNm des oncoprotéines E6 et E7 des HPV HR 16, 18, 31, 33, 45. Il comporte une étape d'extraction. L'amplification des ARNm est réalisée à température constante à l'aide de trois enzymes (transcriptase inverse, ARN polymérase et RNase) selon le principe NASBA. Un contrôle interne ciblant l'ARN humain ubiquitaire U1A permet de contrôler la qualité de l'extraction et de la conservation des ARN.

**Tableau 3.** Caractéristiques des kits de géotypage des HPV utilisés en France

Nom du kit, Fabricant	Technologie	HPV identifiés
Papillocheck, Greiner Bio-one	PCR dans E1 +Hybridation sur puce	24 HPV : - HR*: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82 ; - BR <sup>§</sup> : 6, 11, 40, 42, 43, 44.
INNO-LIPA genotyping, Innogenetics	PCR SFP10 + Hybridation sur bandelettes	28 HPV : - HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 ; - HR probables : 26, 53, 66 ; - Non classés : 69, 71, 74 ; - BR : 6, 11, 40, 43, 54, 44, 70.
Linear Array HPV genotyping test, Roche	PCR MY09/11 + Hybridation sur bandelettes	37 HPV : - HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 ; - BR : 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 73, 81, 82, 83 84 IS39, CP6108.
Clart HPV2, Genomica	PCR MY09/11 + Hybridation sur fond de tube tronqué. Révélation colorimétrique	35 HPV : - HR : 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 ; - BR : 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 71, 72, 81, 83, 84 89.
Digene HPV genotyping RH test, Qiagen	PCR GP5+/6 + Hybridation inverse sur bandelettes	18 HPV : - HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 ; - probablement HR : 26, 53, 66, 73, 82.
Digene HPV genotyping LQ (liquid chip) test, Qiagen	PCR GP5+/6 + Hybridation sur microbilles de polystyrène. Révélation par fluorescence	18 HPV : - HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 ; - probablement HR : 26, 53, 66, 73, 82.
Digene HPV genotyping PS test, Qiagen (sur échantillons HC2)	Hybridation en phase liquide avec sondes d'ARN Révélation par chimioluminescence	3 HPV : - HR : 16, 18, 45.

\* HR : haut risque.

§ BR: bas risque.

### 3.3 Conditions actuelles de la prise en charge par l'Assurance maladie

L'acte de la détection du génome (ADN) des papillomavirus humains oncogènes, par hybridation moléculaire, avec ou sans amplification génique sur cellules de frottis cervico-utérin, est inscrit à la NABM (code NABM 4127) et intégrés à la CCAM (code CCAM ZZQP173) dans une seule indication : frottis ASC-US.

La recherche de l'ARN HPV n'est pas prise en charge par l'Assurance maladie.

### 3.4 Contexte réglementaire

Les tests HPV répondent à la définition du dispositif médical de diagnostic *in vitro* (DMDIV) selon la directive européenne 98/79/CE transposée dans le Code de la santé publique par l'ordonnance n° 2001-198 du 1<sup>er</sup> mars 2001.

Une réactovigilance est organisée depuis le décret n°96-351, qui institue une nécessité de déclaration des insuffisances ou erreurs susceptibles d'être dues à l'utilisation des réactifs. Il est précisé dans la loi n°98-535 et le décret n°99-145 que l'ensemble des DMDIV utilisés en anatomie cytologie pathologie (ACP) entrent dans le champ de compétence de l'AFSSAPS.

Ces tests moléculaires, inscrits initialement à la NABM, ont également été intégrés à la CCAM depuis septembre 2009 (25).

De plus, la législation relative à la biologie médicale impose depuis 2010 la mise en place de l'accréditation de tous les laboratoires de biologie médicale (LBM) en France (ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale), ainsi que les structures d'anatomie et de cytologie pathologiques (ACP) pour les techniques qui relèvent de la biologie médicale.

### 3.5 Éléments professionnels et organisationnels

Les échantillons de FCU sont transmis en majorité par les laboratoires d'anatomo-cytopathologie qui définissent le milieu de transport de l'échantillon et vérifient la conformité du prélèvement. Cependant, le laboratoire de virologie ne connaît pas toujours la durée et les conditions de conservation de l'échantillon qui peuvent avoir un impact sur la qualité des résultats. La mise en place d'une fiche de traçabilité associée systématiquement au prélèvement et comportant ces informations pourrait entrer dans le cadre d'une amélioration des pratiques.

Un même laboratoire de virologie peut être amené à travailler avec plusieurs laboratoires d'anatomo-cytopathologie qui peuvent utiliser des milieux de transport différents. Ces derniers ne sont pas forcément validés pour la technique de détection qu'ils emploient, surtout s'ils ne disposent que d'une seule technique.

## 4. L'évaluation

### 4.1 Objectifs de l'évaluation

Les objectifs de cette évaluation seront de définir :

- l'impact sur la qualité des résultats du non-respect des bonnes pratiques de la technique de recherche des HPV ;
- les bonnes pratiques de réalisation permettant de garantir la qualité des résultats.

### 4.2 Champs d'évaluation et questions à traiter

**Cette évaluation portera sur la seule indication du diagnostic virologique recommandée et prise en charge par l'Assurance maladie : en cas de FCU ASC-US.**

Les champs de cette évaluation sont définis ci-dessous.

- Identification des bonnes pratiques dans le domaine : le processus est-il décrit dans les grandes lignes ? L'importance du milieu de transport et l'existence de milieux spécifiques pour la cytologie et d'autres pour la virologie sont-elles prises en compte dans des études relatives aux différents milieux de transport ? Quelles sont les études sur la stabilité de l'ADN et l'impact des conditions de conservations des échantillons ?
- Impact sur la performance des tests et sur la qualité des résultats du non-respect des bonnes pratiques de la technique de recherche et/ou de génotypage des HPV (qui sont soit prévues par le fabricant des trousse, soit dans le processus habituel du déroulement de ce type d'examen). Cela nécessiterait de rechercher et identifier les éventuels inhibiteurs de l'ADN de l'HPV, soit les éléments qui peuvent en perturber l'identification en termes de :
  - sensibilité de détection des HPV ;
  - fréquence des prélèvements avec cellularité insuffisante ;
  - fréquence des inhibitions de la PCR.

### 4.3 Base documentaire disponible

Une recherche documentaire préliminaire (cf. annexe) a identifié 249 références au total par interrogation des bases de données bibliographiques. Une soixantaine de documents, dont les données semblent contributives, ont été identifiés après la première sélection.

### 4.4 Étapes étudiées

Les étapes étudiées seront :

- le prélèvement :
  - techniques utilisées ;
  - milieux de conservation/transport utilisés ;
  - température de conservation de l'échantillon clinique dans le milieu de transport ;
  - durée de conservation de l'échantillon avant envoi au laboratoire de virologie ;
  - mode d'envoi de l'échantillon ;
- la libération des acides nucléiques :
  - techniques utilisées (extraction ou lyse) ;

- validation de la technique de libération des acides nucléiques pour la technique de détection utilisée ;
- détection :
  - contrôle interne utilisé (gène de ménage ou matrice d'ADN) ;
- bonnes pratiques de réalisation permettant de garantir la qualité des résultats aux étapes suivantes :
  - prélèvement ;
  - libération des acides nucléiques ;
  - détection des HPV.

La définition du seuil de positivité de la détection des HPV ne fera pas partie du champ de cette évaluation.

## 5. Modalités de réalisation

### 5.1 Titre retenu pour l'évaluation

Conditions de réalisation de la détection des papillomavirus humains (HPV).

### 5.2 Méthode de travail

Cette évaluation nécessite :

- une recherche systématique de la littérature permettant de renseigner les critères d'évaluation définis ;
- la position des professionnels de santé concernés recueillie dans le cadre d'auditions individuelles conduites de manière semi-directive à l'aide d'un questionnaire et qui feront l'objet d'un compte-rendu validé par la personne auditionnée.

Les spécialités sollicitées pour les auditions sont :

- anatomo-cytopathologistes ;
- biologistes médicaux, virologistes ;
- gynécologues médicaux ;
- gynécologues obstétriciens ;
- médecins généralistes.
- Dermatologues
- Urologues
- Cancérologues

Les organismes professionnels à contacter sont donc :

- Collège national des gynécologues et obstétriciens français ;
- Conseil national professionnel des anatomo-cytopathologistes (qui regroupe en son sein : Collège universitaire français des pathologistes, Société française de cytologie clinique, Académie internationale de pathologie (division française), Société française de pathologie et Association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologique) ;
- Collège de la médecine générale ;
- Société de chirurgie gynécologique et pelvienne ;
- Société française de biologie clinique ;
- Société française de microbiologie ;
- Société française de colposcopie et de pathologie cervico-vaginale ;
- Société française de gynéco-pathologie ;
- Fédération française d'infectiologie.Française d'Infectiologie ;
- Société Française de Dermatologie ;
- Association Française d'Urologie ;
- CIRC Lyon.

### 5.3 Documents à produire

L'évaluation des conditions de réalisation de la détection et/ou du génotypage des papillomavirus humains aboutira à :

- un rapport d'évaluation technologique ;
- un texte court résumant cette évaluation ;
- un résumé INAHTA en anglais ;

- un texte court en anglais.

## **5.4 Plan de communication et diffusion**

Les cibles de la diffusion du rapport sont les institutionnels et les professionnels concernés.

## **5.5 Calendrier prévisionnel**

Ce sujet d'évaluation a été inscrit au programme de travail de la HAS. Celui-ci prévoit :

- début d'évaluation au 3<sup>ème</sup> trimestre 2011 ;
- examen de la note de cadrage en Commission fin mai 2012 ;
- validation de la note de cadrage par le Collège de la HAS en juin 2012 ;
- publication de la note de cadrage en juin 2012 ;
- recueil des auditions : première quinzaine de juillet 2012 ;
- examen du rapport en Commission : septembre ou début octobre 2012 ;
- validation par le Collège de la HAS : novembre 2012 au plus tard ;
- publication du rapport et de l'avis de la HAS sur le site de la HAS en décembre 2012.



## **6. Validation**

### **6.1 Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMTS)**

29 mai 2012.

### **6.2 Collège**

20 juin 2012.

## Annexe 1. Recherche bibliographique

### Bases de données bibliographiques

La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et/ou type d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française.

Le tableau 4 présente de façon synthétique les étapes successives de cette interrogation dans la base de données *Medline*.

Le nombre total de références obtenues par interrogation des bases de données bibliographiques est **249**.

**Tableau 4.** Stratégie de recherche dans la base de données *Medline*

Type d'étude / sujet		Période
	Termes utilisés	
<b>Milieu de culture</b>		Pas de limite – novembre 2011
Étape 1	(Papillomaviridae/(isolation and purification OR genetics OR cytology OR analysis)/de OR Papillomavirus Infections/(diagnosis OR virology)/de OR Cervical Intraepithelial Neoplasia/virology/de OR Uterine Cervical Neoplasms/virology/de OR Head and Neck Neoplasms/virology/de OR ((HPV OR papilloma*)/ti AND (isolation OR purification OR analys* OR detection* OR test* OR genotyp*)/ti)	
ET		
Étape 2	Culture Media/de OR Culture Media/Substance OR Culture Media/Pharmacological Action OR (culture medi* OR transport medi* OR storage medi*)/ti	
SAUF	Cell Line, Transformed/de OR (immortaliz* OR cell line* OR transformed cell*)/ti	
<b>Contrôle qualité</b>		Pas de limite – novembre 2011
Étape 1		
ET		
Étape 3	Quality control/de OR quality control*/ti	
<b>Manipulation des échantillons</b>		Pas de limite – novembre 2011
Étape 1		
ET		
Étape 4	Specimen Handling/(methods OR standards)/de OR specimen handling/ti	

## Sites consultés

- Bibliothèque médicale Lemanissier ;
- Catalogue et index des sites médicaux francophones – CISMeF ;
- Évaluation des technologies de santé pour l'aide à la décision (Fédération hospitalière de France) – ETSAD ;
- Adelaide Health Technology Assessment – AHTA ;
- Agency for Healthcare Research and Quality – AHRQ ;
- Alberta Heritage Foundation for Medical Research ;
- Alberta Medical Association ;
- American College of Physicians ;
- Australian Safety and Efficacy Register of New Interventional Procedures – Surgical ;
- Blue Cross Blue Shield Association - Technology Evaluation Center ;
- BMJ Clinical Evidence ;
- California Technology Assessment Forum ;
- Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health – CADTH ;
- Canadian Task Force on Preventive Health Care ;
- Centre fédéral d'expertise des soins de santé – KCE ;
- Centre for Clinical Effectiveness ;
- Centre for Reviews and Dissemination databases ;
- Clinical Practice Guidelines Portal ;
- CMA Infobase ;
- Cochrane Library ;
- College of American Pathologists ;
- Euroscan ;
- Expertise collective de l'INSERM ;
- Guideline Advisory Committee ;
- Guidelines and Protocols Advisory Committee – GPAC ;
- Guidelines International Network – GIN ;
- Health Services Technology Assessment Text – HSTAT ;
- Horizon Scanning ;
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux – INESSS ;
- Institute for Clinical Evaluative Sciences – ICES ;
- Institute for Clinical Systems Improvement – ICSI ;
- Institute for Health Economics Alberta ;
- International Agency for Research on Cancer – IARC ;
- Medical Services Advisory Committee ;
- National Coordinating Centre for Health Technology Assessment – NCCHTA ;
- National Guideline Clearinghouse – NGC ;
- National Health and Medical Research Council – NHMRC ;
- National Horizon Scanning Centre – NHSC ;
- National Institute for Health and Clinical Excellence – NICE ;
- New Zealand Guidelines Group – NZGG ;
- New Zealand Health Technology Assessment ;
- NHS Evidence ;
- Ontario Health Technology Advisory Committee ;
- Prodigy ;
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network – SIGN ;
- Société française de médecine générale ;
- Singapore Ministry of Health ;
- Tripdatabase ;
- U.S. Preventive Services Task Force ;

- Veterans affairs, Dep. Of Defense Clinical practice guidelines ;
- *Veterans Affairs Technology Assessment Program* ;
- *West Midlands Health Technology Assessment Collaboration*.

## Annexe 2. Références bibliographiques

1. Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol* 1995;141(7):680-9.
2. Haute Autorité de Santé. État des lieux et recommandations pour le dépistage du cancer du col de l'utérus en France. Synthèse et recommandations. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2010.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-11/synthese\\_recommandations\\_depistage\\_cancer\\_du\\_col\\_de\\_luterus.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2010-11/synthese_recommandations_depistage_cancer_du_col_de_luterus.pdf)
3. Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. *Journal Officiel* 2002;4 mai(104).
4. Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. *Journal Officiel* 1999;11 décembre(287).
5. 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(1):70-9.
6. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res* 2004;64(11):3878-84.
7. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, *et al.* A review of human carcinogens. Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10(4):321-2.
8. Behtash N, Mehrdad N. Cervical cancer: screening and prevention. *Asian Pac J Cancer Prev* 2006;7(4):683-6.
9. Rodríguez AC, Schiffman M, Herrero R, Wacholder S, Hildesheim A, Castle PE, *et al.* Rapid clearance of human papillomavirus and implications for clinical focus on persistent infections. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(7):513-7.
10. Elfgrén K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2002;100(5 Pt 1):965-71.
11. Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Évaluation de l'intérêt de la recherche des papillomavirus humains (HPV) dans le dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus. Saint-Denis La Plaine: ANAES; 2004.  
[http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/HPV\\_%20rap.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/HPV_%20rap.pdf)
12. Institut national de santé publique du Québec, Akom E, Venne S. L'infection au virus du papillome humain (VPH). Montréal: INSPQ; 2002.  
[http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/179\\_InfectionVPH.pdf](http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/179_InfectionVPH.pdf)
13. Sheets EE. Management of adenocarcinoma in situ, micro-invasive, and early stage adenocarcinoma of the cervix. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2002;14(1):53-7.
14. Castellsagué X, Diaz M, de Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, *et al.* Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(5):303-15.
15. 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(2):428-32.
16. 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(2):424-7.
17. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127(12):2893-917.
18. Bergeron C, Cohet C, Bouée S, Lorans C, Rémy V. Coût de la prise en charge des frottis anormaux et des néoplasies intraépithéliales du col de l'utérus en France. *BEH* 2007;(1):4-6.
19. Institut de veille sanitaire, Duport N. Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. État des connaissances. Actualisation 2008. Saint-Maurice: INVS; 2008.  
[http://www.invs.sante.fr/publications/2008/cancer\\_col\\_uterus\\_2008/cancer\\_col\\_uterus\\_2008.pdf](http://www.invs.sante.fr/publications/2008/cancer_col_uterus_2008/cancer_col_uterus_2008.pdf)
20. Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé. Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal. Actualisation. Recommandations. Saint-Denis La Plaine: ANAES; 2002. [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/frottis\\_final\\_recommandations.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/frottis_final_recommandations.pdf)
21. Heard I, Favre M, Fihman V. Enquête sur les pratiques de détection et de génotypage des papillomavirus humains dans les laboratoires de microbiologie en France en 2009. *Ann Biol Clin* 2011;69(3):303-9.
22. Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of

cervical neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(10):2536-45.

23. Samama B, Schaeffer C, Boehm N. P16 expression in relation to human papillomavirus in liquid-based cervical smears. *Gynecol Oncol* 2008;109(2):285-90.

24. Coutlée F, Mayrand MH, Roger M, Franco EL. Detection and typing of human papillomavirus nucleic acids in biological

fluids. *Public Health Genomics* 2009;12(5-6):308-18.

25. Décision du 9 juillet 2009 de l'Union nationale des caisses d'assurance maladie relative à la liste des actes et prestations pris en charge par l'assurance maladie. *Journal Officiel* 2009;19 septembre.

### Annexe 3. Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques des milieux de conservation des cellules .....	14
Tableau 2. Caractéristiques des kits de détection de l'ADN HPV commercialisés en France.....	17
Tableau 3. Caractéristiques des kits de génotypage des HPV utilisés en France.....	19
Tableau 4. Stratégie de recherche dans la base de données <i>Medline</i> .....	26

## Fiche descriptive

Intitulé	CONDITIONS DE RÉALISATION DE LA DÉTECTION DES PAPILLOMA VIRUS HUMAINS (HPV)
Méthode de travail	<p>Analyse des données de la littérature.</p> <p>Recueil de la position des professionnels de santé dans le cadre d'auditions individuelles conduites de manière semi-directive à l'aide d'un questionnaire, et qui feront l'objet d'un compte-rendu validé par la personne auditionnée.</p>
Date de mise en ligne	Juin 2012.
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique.
Objectif(s)	<p>Identifier l'impact sur la qualité des résultats du non respect des bonnes pratiques de la technique de recherche et/ou de génotypage des HPV .</p> <p>Définir les bonnes pratiques de réalisation permettant de garantir la qualité des résultats.</p>
Professionnel(s) concerné(s)	Anatomo-cytopathologistes ; biologistes médicaux, virologistes ; gynécologues médicaux ; gynécologues obstétriciens ; médecins généralistes ; dermatologues ; urologues ; cancérologues.
Demandeur	Le Centre National de Référence (CNR) des papillomavirus humains ( <i>Human Papilloma Virus - HPV</i> ).
Promoteur	Haute Autorité de Santé.
Pilotage du projet	<p>M<sup>me</sup> Catherine DELAMARE, chargée de projet, en collaboration avec M<sup>me</sup> Fabienne QUENTIN et M<sup>me</sup> Aurélie GAREL PACULL, chefs de projet au service évaluation des actes professionnels, sous la direction de Michèle MORIN-SURROCA, adjointe au chef de service, et de M<sup>me</sup> Sun-Hae LEE-ROBIN, chef de service.</p> <p>Secrétariat : Christine MAYOL, assistante.</p> <p>Recherche documentaire : M<sup>me</sup> Sophie DESPEYROUX, documentaliste, en collaboration avec M<sup>me</sup> Renée CARDOSO, assistante-documentaliste, sous la direction de M<sup>me</sup> Christine DEVAUD, adjointe au chef de service, et de M<sup>me</sup> Frédérique PAGES, chef de service.</p>
Participants	Haute Autorité de Santé.
Recherche documentaire	Sans limite à novembre 2011 : 249 références identifiés.
Auteurs de l'argumentaire	M <sup>me</sup> Catherine DELAMARE, chargée de projet, en collaboration avec M <sup>me</sup> Fabienne QUENTIN et M <sup>me</sup> Aurélie GAREL PACULL.
Validation	<p>Validation par la CNEDIMTS le 29 mai 2012.</p> <p>Validation par le Collège de la HAS le 20 juin 2012 .</p>
Autres formats	Aucun autre format disponible.
Documents d'accompagnement	Aucun document d'accompagnement.







Toutes les publications de l'HAS sont téléchargeables sur  
[www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)