

TEXTE COURT DU RAPPORT D'ÉVALUATION TECHNOLOGIQUE

Conditions pré-analytiques de réalisation de la recherche du génome (ADN) des Papillomavirus Humains (HPV) oncogènes à partir de frottis cervico-utérins

Octobre 2013

Ce texte court est téléchargeable sur
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 00

Sommaire

Introduction	4
1. Contexte	5
2. Problématique et objectifs du travail.....	7
3. Méthode d'évaluation	9
3.1 Recherche documentaire	9
3.2 Position des professionnels de santé.....	9
4. Résultats de l'évaluation	10
4.1 Aspects réglementaires	10
4.2 Synthèse des six recommandations identifiées	13
4.3 Conclusion de l'analyse des études.....	14
4.4 Synthèse de l'avis des professionnels	17
5. Conclusion générale.....	23
Fiche descriptive	30

Introduction

Les papilloma virus humains (*Human Papilloma Virus – HPV*) sont de petits virus à ADN transmis par contact sexuel, le plus souvent lors des premiers rapports. 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 chez la femme.

En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus est fondé sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) tous les trois ans entre 25 et 65 ans, après deux FCU normaux réalisés à un an d'intervalle.

Pour l'examen de cytologique, le frottis peut être étalé sur lame « frottis conventionnel » ou mis en suspension dans un milieu liquide « frottis en phase liquide ».

Si l'examen cytologique révèle un frottis ASC-US, c'est-à-dire présentant une atypie des cellules malpighiennes de signification indéterminée (*Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*), une des trois possibilités de conduite à tenir recommandées par l'ANAES est la recherche qualitative du génome (ADN) des HPV oncogènes.

C'est dans cette indication que la recherche de l'ADN de l'HPV est prise en charge par l'Assurance Maladie.

La recherche du génome des HPV oncogènes est réalisée sur frottis en phase liquide, elle se déroule en plusieurs étapes :

- le prélèvement ;
- le transport et la conservation ;
- la libération de l'ADN et la détection des acides nucléiques.

Plusieurs trousse de recherche d'HPV sont commercialisées de même que plusieurs milieux de conservation et de transport. Tous ces dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (DMDIV) ont un marquage CE au titre de la directive européenne 98/79/CE relative à ces dispositifs. Chaque trousse de détection est conforme avec un ou plusieurs milieux de transport et de conservation donné(s).

En 2009, le Centre national de référence (CNR) des papillomavirus humains et en 2011, l'ANSM et le CNR ont réalisé des enquêtes auprès des structures pratiquant des examens de détection des HPV. Ces études ont révélé que certaines structures utilisaient soit des liquides « maisons » sans marquage CE soit des liquides avec un marquage CE qui n'avaient pas été validés pour la trousse (ou les trousse) de recherche de l'ADN/génome des HPV utilisées par ces structures.

A la suite de ce constat, le CNR a demandé à la HAS une évaluation des conditions pré-analytiques de réalisation du test de détection de l'ADN des HPV. Cette demande a été acceptée par la HAS qui a inscrit ce sujet à son programme de travail.

1. Contexte

Les papillomavirus humains (*Human Papilloma Virus – HPV*) sont de petits virus à ADN avec un tropisme exclusif pour les cellules métoplasiques des jonctions des épithéliums malpighiens et glandulaires. Ils induisent un effet cytopathogène caractéristique avec une transformation des kératinocytes en koïlocytes, responsables de lésions cutanées, orales, laryngées et ano-génitales chez l'homme et la femme. Ces lésions sont 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.

Dans ce dernier cas, les HPV sont transmis par contact sexuel, le plus souvent lors des premiers rapports et c'est l'existence d'une infection persistante par HPV à haut risque oncogène qui est considérée comme la cause principale du cancer du col de l'utérus. L'histoire naturelle du cancer du col est le plus souvent l'aboutissement d'un processus se déroulant sur plusieurs décennies.

En 2000, en France, il se situait au 8e rang des cancers de la femme en termes d'incidence et au 5e rang en termes de mortalité.

La stratégie de prévention du cancer du col associe actuellement en France une prévention primaire avec la vaccination des jeunes filles entre 11 et 14 ans et une prévention secondaire avec le dépistage.

Ce dernier est fondé sur la réalisation d'un frottis cervico-utérin (FCU) chez les femmes de 25 à 65 ans, tous les trois ans (après deux FCU normaux réalisés à un an d'intervalle).

Deux techniques de FCU existent, après prélèvement par un professionnel de santé (médecin, sage-femme), le frottis est soit étalé sur une lame pour une cytologie conventionnelle (dite de Papanicolaou) ou déchargé dans un liquide pour une cytologie en phase liquide ou en couche mince. En France, en 2012, les chiffres de l'Assurance Maladie ont révélé quasiment autant de frottis réalisés en phase liquide (2,5 millions) que de frottis conventionnels (2,3 millions). Les frottis sont transmis ensuite aux structures d'ACP qui réalisent l'examen cytologique sous la responsabilité d'un médecin.

Devant un examen cytologique révélant un frottis avec atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée (ASC-US), la recherche des HPV oncogènes par détection d'ADN sur frottis en phase liquide est l'une des trois options préconisées par l'ANAES. C'est dans cette indication que la recherche de l'ADN de l'HPV est prise en charge par l'Assurance Maladie.

En France, la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de FCU en phase liquide est réalisée par des laboratoires de biologie médicale, habituellement sous la responsabilité d'un biologiste médical (l'acte est alors coté en NABM), ou dans une structure d'anatomie et de cytologie pathologiques, habituellement sous la responsabilité d'un médecin spécialisé en anatomie et cytologie pathologiques (l'acte est alors coté en CCAM).

Pour l'année 2012 l'Assurance Maladie a enregistré un volume total de réalisation des tests d'HPV qui se répartit de façon quasi équivalente entre les deux professions, biologistes (63770 actes) et anatomocytopathologistes (62 774 actes). Ce volume représente 2,3 % de l'ensemble des frottis en phase liquide réalisés sur la même période. Ce chiffre semble cohérent avec le taux d'ASCUS rapporté dans la littérature et par les experts.

Par ailleurs, le frottis en phase liquide peut emprunter différents circuits selon qu'il est réalisé en première intention pour la cytologie et/ou pour la détection d'HPV et selon que le test d'HPV est réalisé au laboratoire de biologie médicale ou dans la structure d'ACP :

- Si le prélèvement destiné en première intention à la cytologie, le FCU est déchargé dans un **milieu de transport qui doit convenir à la cytologie et à la recherche d'HPV**, il est adressé par le clinicien à la structure d'ACP qui en cas de frottis ASC-US et après avis du clinicien :

- l'adressera au laboratoire de biologie médicale ou à une autre structure ACP pour la réalisation du test HPV,
- ou réalisera le test HPV elle-même si elle dispose de la technique de détection d'HPV.
- Si le FCU est destiné en première intention au test HPV (après diagnostic ASC-US sur frottis conventionnel), le frottis est déchargé dans **un milieu conforme à la recherche d'HPV** et ensuite adressé par le clinicien au laboratoire de biologie médicale ou à la structure d'ACP.

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

Plusieurs trousse de détection disposant d'un marquage CE sont commercialisées. Au 1^{er} janvier 2013, le Centre national de référence des papillomavirus humains (CNR HPV) avait répertorié six principaux kits de détection dont trois permettent à la fois la détection de plusieurs types d'HPV haut risque (HR) et le génotypage spécifique des HPV 16 et 18 et sept principaux tests de génotypage.

Par ailleurs, plusieurs milieux de conservation et de transport des prélèvements existent. En janvier 2013, le CNR HPV au regard des principaux milieux de conservations commercialisés et de leur compatibilité avec les trousse de détection et/ou de génotypage avait répertorié sept principaux milieux de conservations cytologique et virologique et quatre milieux de conservation virologique. Il est très important de souligner qu'un milieu de conservation donné même s'il est validé pour la virologie n'est pas forcément compatible avec tous les tests de détection et/ou de génotypage de l'HPV.

En 2009, le Centre national de référence (CNR) des papillomavirus humains a réalisé une enquête auprès de laboratoires pratiquant la détection des HPV. Cette enquête a montré que certains laboratoires utilisaient des liquides de transport cellulaire, qui pouvaient être des liquides « maisons » sans marquage CE ou des liquides avec un marquage CE mais qui n'avaient pas été validés pour la trousse (ou les trousse) de recherche de l'ADN/génome des HPV utilisées par les laboratoires.

Le CNR HPV et l'ANSM¹ anciennement Afssaps² ont conduit en commun une opération de contrôle national de qualité des examens de recherche du génome viral de papillomavirus (HPV) au cours du dernier trimestre de l'année 2011 (14/11/2011 au 12/12/2011). Ce contrôle a été réalisé auprès de 74 structures pratiquant la détection et/ou génotypage de l'HPV (64 laboratoires de biologie médicale et 10 cabinets d'anatomocytopathologie).

Dans le cadre de ce contrôle de qualité externe, une étude dont l'objectif était de décrire les conditions pré-analytiques de réalisation des tests de détection et de génotypage des HPV, a été réalisée, elle s'est déroulée sous forme d'une enquête préalable et a permis de renseigner :

- le ou les milieux de transport acceptés,
- le réactif de détection ou de génotypage utilisés.
- le nombre de techniques utilisées par chaque structure.

Cette enquête a montré que dans l'ensemble, sur les 12 trousse commercialisées, seules cinq étaient utilisées exclusivement avec des milieux pour lesquels elles étaient validées, les 7 autres trousse étaient utilisées avec au moins un milieu qui n'avait pas été validé avec la ou les trousse(s).

A la suite de ces travaux, le CNR a demandé à la HAS une évaluation des conditions pré-analytiques. Cette demande a été acceptée par la HAS qui a inscrit ce sujet à son programme de travail.

¹ Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

² Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.

2. Problématique et objectifs du travail

La phase pré-analytique d'un examen est classiquement décrite comme l'ensemble d'un certain nombre d'étapes : le prélèvement de l'échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation de l'échantillon, son transport et sa conservation jusqu'à l'endroit où il est analysé.

La littérature s'accorde à reconnaître que la fréquence des erreurs est la plus élevée au niveau de la phase pré-analytique {Murat 2003 277}{Rapport IGAS 2006 276} avec une répartition du pourcentage d'erreurs détectées entre les trois phases se répartissant de la manière suivante {Wiwanitkit 2001 285} :

- pré-analytique 85 % ;
- analytique 4 % ;
- post-analytique 11 %.

La phase pré-analytique dans le contexte du test HPV est d'autant plus importante qu'elle fait appel à plusieurs intervenants (cliniciens, anatomocytopathologistes, biologistes médicaux), plusieurs milieux de transport, plusieurs circuits d'acheminement et plusieurs étapes.

La première étape qui consiste au prélèvement du FCU, est réalisée dans le cabinet ou le service, du professionnel de santé clinicien qui peut notamment être un gynécologue, un médecin généraliste ou une sage-femme.

Le prélèvement est ensuite déchargé dans un milieu de transport qui peut être soit validé pour la cytologie soit validé pour la recherche d'HPV soit validé pour ces deux examens. De plus, compte tenu de la multiplicité des tests de détection d'HPV, même si un milieu de transport est validé pour un test de détection donné, il ne l'est pas forcément pour les autres.

A cette complexité se rajoutent d'une part l'existence de deux types de cytologie : conventionnelle et en phase liquide et d'autre part le fait que la détection d'HPV peut être réalisée par deux professionnels différents, les ACP et les biologistes médicaux.

Il faut enfin noter que selon les recommandations en vigueur le test HPV est préconisé à la suite d'une cytologie ASC-US, soit environ 3 % des cas ; dans 97 % des cas, la cytologie n'est donc pas suivie d'une recherche d'HPV.

Le frottis en phase liquide peut ainsi emprunter différents circuits selon qu'il est réalisé en première intention pour la cytologie et/ou pour la détection d'HPV et selon que le test d'HPV est réalisé au laboratoire de biologie médicale ou dans la structure d'ACP :

- Si le prélèvement destiné en première intention à la cytologie, le FCU est déchargé dans un milieu de transport qui doit convenir à la cytologie et à la recherche d'HPV, il est adressé par le clinicien à la structure d'ACP qui en cas de frottis ASC-US et après avis du clinicien :
 - l'adressera au laboratoire de biologie médicale ou à une autre structure ACP pour la réalisation du test HPV ;
 - ou réalisera le test HPV elle-même si elle dispose de la technique *ad hoc*.
- Si le FCU est destiné en première intention au test HPV (après diagnostic ASC-US sur frottis conventionnel), le frottis est déchargé dans un milieu conforme à la recherche d'HPV et ensuite adressé par le clinicien au laboratoire de biologie médicale ou à la structure d'ACP.

Il convient aussi de rappeler la spécificité du contexte réglementaire de cet examen. En effet, s'il est réalisé par un laboratoire de biologie médicale, il est régi par le GBEA ou par la norme NF EN ISO 15189 (pour les laboratoires qui sont entrés dans la démarche d'accréditation volontaire). Si la recherche d'HPV est réalisée dans une structure d'ACP, le GBEA n'a pas de valeur réglementaire, ni la norme NF EN ISO 15189 (sauf pour les structures engagées dans une démarche d'accréditation volontaire). Enfin, il est à noter que le prélèvement n'étant pas réalisé au labora-

toire de biologie médicale ou dans la structure d'ACP, ces derniers reçoivent un prélèvement qui a traversé plusieurs étapes dont ils n'ont pas géré la phase pré-analytique et dont ils ne peuvent attester de la qualité.

Dans un tel contexte, très multifactoriel, si toutes les étapes ne sont pas coordonnées et réalisées conformément aux bonnes pratiques et aux règles d'assurance qualité, les risques d'erreurs peuvent être multiples.

Au regard des éléments du contexte, l'une des principales non-conformités relevées dans la phase pré-analytique³ ⁴(enquête du CNR de 2009 et étude de l'ANSM et du CNR en 2011), concerne l'utilisation de milieux de transport cellulaire non validés avec les trousse de détection et/ou génotypage d'HPV utilisées par les laboratoires.

Ce constat interpelle et renvoie notamment aux diverses autres anomalies susceptibles d'être rencontrées à toutes les étapes de la phase pré-analytique⁵. Il pourrait s'agir notamment :

- de l'identification et de la traçabilité des prélèvements ;
- du choix du matériel de prélèvement cervico-vaginal ;
- des modalités pratiques du prélèvement cervico-vaginal ;
- du délai de transport et de conservation ;
- de la température de transport et de conservation ;
- de la phase d'extraction et de purification de l'ADN ;

En définitive, l'objectif de ce travail qui se place dans le cadre de l'indication de recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes, recommandée et prise en charge par l'Assurance Maladie (frottis cervico-utérin ASC-US), est :

- d'identifier les facteurs pré-analytiques susceptibles d'interférer avec les résultats de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes ;
- d'établir les conditions de réalisation de la phase pré-analytique de cette recherche.

³ La phase pré-analytique des analyses de biologie médicale : rôle du PHISP : comment le biologiste assure la maîtrise de cette étape. Philippe Murat – Mémoire de l'École nationale de santé publique – 2003.

⁴ Rapport IGAS 2006, La biologie médicale libérale en France : bilan et perspectives.

⁵ *Types and frequency of preanalytical mistakes in the first Thai ISO 9002:1994 certified clinical laboratory, a 6 – month monitoring.* Viroj Wiwanitkit *BMC Clinical Pathology* 2001, 1:5, disponible sur Internet <http://www.biomedcentral.com/1472-6890/1/5>.

3. Méthode d'évaluation

La méthode d'évaluation utilisée dans ce rapport s'inspire est fondée sur :

- L'analyse des textes réglementaires s'appliquant à la phase pré-analytique.
- L'analyse de la littérature (recommandations de bonne pratique et études).
- Le recueil de la position des professionnels dans le cadre d'auditions individuelles.

3.1 Recherche documentaire

Pour les recommandations de bonne pratique et les études, la recherche a été limitée aux publications en langue anglaise et française, publiées depuis janvier 1998. Une veille bibliographique sur les sites Internet et une mise à jour mensuelle sur *Medline* ont été réalisées jusqu'en avril 2013. Cette recherche a été complétée par les références citées dans les documents analysés.

Pour la partie réglementaire, le texte a été rédigé à partir de différents documents publiés sur les sites internet du ministère des Affaires sociales et de la Santé, du COFRAC et du site web officiel du Gouvernement français pour la publication des textes légaux et la diffusion d'une partie des décisions juridiques de droit français (www.legifrance.gouv.fr/).

3.2 Position des professionnels de santé

Compte-tenu du caractère très technique de cette évaluation, la position des professionnels a été recueillie selon une procédure d'audition semi-directive réalisée au moyen d'un questionnaire préétabli. Onze experts ont participé à ce travail, ils ont été consultés individuellement en mai 2013 et interrogés sur les conditions pré-analytiques de réalisation des tests de détection du génome des papillomavirus humains (HPV) sur la base de leurs pratiques et de leurs expériences. Leurs propos ont été recueillis par la HAS, fait l'objet de comptes rendus qu'ils ont validés, ensuite une synthèse globale de leur position a été réalisée.

Les déclarations publiques d'intérêts (DPI) des experts ayant participé aux auditions ont toutes été analysées selon le « Guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts » de la HAS de mars 2010.

Le Bureau de la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDiMTS) a jugé que les intérêts déclarés étaient compatibles avec la participation de ces différents experts.

Toutes les DPI des experts auditionnés sont consultables sur le site de la HAS (www.has-sante.fr)⁶.

⁶ http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/guide_dpi.pdf

4. Résultats de l'évaluation

4.1 Aspects réglementaires

La recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de frottis cervico-utérins est un acte réalisé dans un laboratoire de biologie médicale ou dans une structure d'anatomie et de cytologie pathologiques, d'où l'appellation d' « acte frontière ».

Dans le premier cas (réalisation dans un laboratoire de biologie médicale), cette recherche doit répondre à des exigences législatives et réglementaires (GBEA actuellement et norme NF EN ISO 15189 dans le cadre de l'accréditation).

Dans le second cas (réalisation dans une structure d'anatomie et de cytologie pathologiques), ces exigences législatives et réglementaires ne s'appliquent pas mais il existe des recommandations de bonnes pratiques établies par la profession d'anatomie et de cytologie pathologiques, que les anatomo-cytopathologistes sont invités à suivre. Pour ce qui est des actes utilisant des techniques de biologie moléculaire – comme la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de FCU – ces recommandations préconisent de suivre les directives du GBEA.

En conséquence, bien que la biologie médicale et l'anatomie et la cytologie pathologiques ne soient pas encadrées par des textes de même valeur juridique (textes législatifs et réglementaires pour la première et recommandations professionnelles pour la seconde), ces textes s'inscrivent tous dans la même démarche en suivant ou en s'inspirant du GBEA.

Selon l'article L. 6211-2 du Code de la santé publique, un examen de biologie médicale se déroule en trois phases :

- une phase pré-analytique ;
- une phase analytique ;
- une phase post-analytique.

En l'espèce, ce rapport s'intéresse aux étapes pré-analytiques de la recherche du génome des HPV oncogènes. La phase pré-analytique comprend le prélèvement d'un échantillon biologique sur un être humain, le recueil des éléments cliniques pertinents, la préparation, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé⁷.

Le GBEA énonce les règles de bonnes pratiques de réalisation des examens de biologie médicale. Ces règles doivent être respectées autant par les laboratoires de biologie médicale publics que privés. Une synthèse des principaux éléments relatifs à la phase pré-analytique extraits du « Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale » (GBEA) issu de l'arrêté du 26 novembre 1999⁸ est présentée dans les encadrés qui suivent :

⁷ Article L. 6211-2 du Code de la santé publique.

⁸ Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

Prélèvement et identification des échantillons biologiques

- Le biologiste fournit aux médecins prescripteurs toutes les précisions utiles aux conditions de mise en œuvre des analyses médicales.
- Les échantillons doivent, dans toute la mesure du possible, être associés à une « *fiche de suivi médical* » comportant tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats.
- Le prélèvement peut être effectué par le médecin prescripteur, par le biologiste ou par du personnel qualifié et autorisé conformément à la réglementation en vigueur.
- Le biologiste vérifie la conformité des échantillons biologiques acceptés dans son laboratoire.
- Il doit refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires.
- Le récipient destiné à recevoir l'échantillon biologique doit être adapté à la nature de l'échantillon et à celle des analyses.
- L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne. Il doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible, le nom de jeune fille si une procédure le prévoit, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et, chaque fois qu'une procédure le prévoit, l'heure du prélèvement et/ou sa localisation.
- Si la taille du tube ne permet pas l'apposition d'une étiquette comportant l'ensemble des renseignements précités, ce tube étiqueté est placé dans un récipient individuel où toutes les indications ci-dessus sont mentionnées de façon à éviter toute erreur.
- Le biologiste doit mettre en place une procédure permettant de lier l'échantillon biologique au patient, même si l'identité de celui-ci est incomplète ou approximative.
- Si un étiquetage code-barres est utilisé, il ne doit pas masquer les renseignements énoncés en clair.
- Lors de la préparation de fractions aliquotes, l'étiquetage des tubes ou récipients secondaires doit se faire selon les procédures rigoureuses permettant l'identification sans ambiguïté de chaque échantillon au sein du poste de travail ou du poste de stockage.

Transport, transmission et conservation des échantillons

- Le transport des échantillons doit respecter des règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels.
- Des procédures et des modes opératoires écrits par le laboratoire qui effectue l'analyse doivent fixer les conditions particulières de délai de transport, de température de conservation et d'intégrité de l'emballage des échantillons biologiques.
- Le transport des échantillons biologiques doit s'effectuer le plus rapidement possible au laboratoire en prenant toutes les précautions pour éviter les risques de contamination et de dégradation des constituants.
- Le ou les récipients étanches contenant les échantillons biologiques doivent être insérés dans une boîte étanche, tapissée par un matériau absorbant et l'ensemble placé dans un emballage extérieur résistant, portant les noms et adresses du laboratoire destinataire et de l'expéditeur.
- L'étiquetage et la résistance des emballages doivent être conformes à la réglementation en vigueur.
- Si l'échantillon doit être transmis à un autre laboratoire, la « fiche de suivi médical » ou sa copie ou, à défaut, une fiche de renseignements établie par le biologiste doit être associée.
- Les dates et les heures de réception des échantillons biologiques au laboratoire destinataire doivent être enregistrées.
- Les conditions de conservation doivent être conformes aux règles de sécurité et d'hygiène en vigueur pour éviter toute contamination du personnel ou toute pollution.
- Les échantillons de calibrage et de contrôle doivent être conservés avec soin dans les conditions précisées par le fabricant.
- Avant exécution des analyses, si celles-ci sont différées, les échantillons et leurs fractions aliquotes doivent être conservés dans des conditions qui préservent leur qualité.
- Les conditions d'identification, de fermeture des récipients et de température de conservation doivent être rigoureusement observées pour éviter tout risque d'erreur, de modification qualitative et/ou quantitative et de contamination.
- La durée de conservation pour chaque cas particulier doit, si elle n'est pas réglementée, être fixée par le biologiste et inscrite sur les procédures opératoires.

Cas particulier des examens utilisant les techniques de biologie moléculaire

- Le prélèvement et le transport des échantillons biologiques ainsi que l'exécution des analyses doivent répondre aux règles générales énoncées plus haut.
- Des conditions particulières au type d'analyse sont susceptibles d'être fixées par des procédures et modes opératoires spécifiques.

Les techniques analytiques doivent :

- soit utiliser des réactifs conformes à la réglementation en vigueur et employés selon le mode opératoire préconisé par le fabricant ;
- soit utiliser des réactifs préparés dans le laboratoire même. Dans ce cas, ces techniques devront être validées scientifiquement, s'appuyer sur des références bibliographiques et faire l'objet de procédure et de mode opératoires détaillés.

4.2 Synthèse des six recommandations identifiées

Au total, ces six recommandations identifiées préconisent un certain nombre de points à éviter ou à suivre aux différentes étapes de la phase pré-analytique pour que celle-ci soit réalisée dans de bonnes conditions.

► Contextes cliniques à éviter

- Présence de sang menstruel, saignements ;
- inflammation ou infection vaginale ;
- rapports sexuels dans les 24 heures ;
- atrophie sévère des organes génitaux (ménopause) ;
- grossesse, post-partum et allaitement ;
- irritation physique ou chimique : examen vaginal, crème ou liquide désinfectant, gel lubrifiant, médicaments vaginaux, douche vaginale ou gel spermicide (moins de 24 heures avant), colposcopie préalable avec l'acide acétique (moins de 24 heures avant), frottis (moins de trois semaines avant), chirurgie cervicale (moins de trois mois avant) ;
- radiothérapie.

► Site de prélèvement optimal

Zone de transformation qui se situe entre l'exocol (épithélium multicouche) et l'endocol (épithélium colonnaire).

► Matériel de prélèvement

- Il n'est pas recommandé d'utiliser des spatules en bois ou des cotons-tiges.
- Les dispositifs de prélèvement doivent être soit en rayonne soit en polyester, trois différents types sont recommandés :
 - la brosse pour prélèvement cervico-vaginal de type Cervex-Brush® ;
 - la cytobrosse endocervicale ;
 - la spatule à extrémité allongée seule ;

► Techniques de prélèvement

- Avant de faire le frottis, le col doit être correctement exposé à l'aide d'un spéculum.
- Si nécessaire réaliser le FCU après traitement œstrogénique chez la femme ménopausée).
- Le prélèvement doit concerner la totalité de l'orifice cervical externe et l'endocol.
- Le choix d'un dispositif particulier dépend des variations dans la taille et la forme du col de l'utérus et de la situation clinique.
 - ▶ Une brosse endocervicale ne doit jamais être utilisée seule.
 - ▶ La brosse type Cervex Brush® est le plus approprié si la femme est enceinte ou que le col saigne facilement.
 - ▶ La combinaison de la cytobrosse et de la spatule offre un meilleur résultat si la jonction paviméno-cylindrique est élevée (souvent post-ménopausique), après une opération du col ou s'il y a ectropion étendu de l'épithélium cylindrique.

► Transport et conservation des prélèvements

- Le matériel de prélèvement doit être placé dans un milieu de transport tel que recommandé par le fabricant du test HPV ou par le laboratoire qui effectue l'analyse du test HPV.
- Les conditions de conservation, température et durée doivent être conformes aux instructions du fabricant du test HPV.
- Si les tests de détection ne sont pas réalisés à la suite, les prélèvements peuvent être soit congelés directement dans le milieu de transport et conservés à -70 °C soit préalablement centrifugés, dans ce dernier cas le traitement du culot d'ADN devra être réalisé selon les recommandations du fabricant du test.

4.3 Conclusion de l'analyse des études

Très peu d'études concernant la phase pré-analytique de la recherche de l'HPV ont été identifiées. Pour une majorité d'entre elles, il s'agit d'études dont l'objectif était de valider une technique ou un site de prélèvement, un milieu de conservation autre que celui recommandé par le fabricant du test de détection d'HPV ou encore des conditions de conservation (durée et température). Certaines études qui validaient un milieu de conservation donné avec un test de détection donné, ont également décrit les protocoles de réadaptation avec les modifications intégrées soit au niveau de la phase d'extraction soit au niveau de la phase de détection des HPV.

La principale limite de toutes ces études est le faible nombre d'échantillons HPV HR positifs. De plus, chaque étude est très spécifique, elle évalue et compare les données dans un contexte particulier :

- ▶ patientes (âges, répartition des grades histologiques dans la population, ...)
- ▶ milieu de conservation ;
- ▶ conditions de conservation ;
- ▶ protocole d'extraction des acides nucléiques ;
- ▶ test de détection ;

Dans un tel contexte multifactoriel, il est difficile d'émettre des conclusions générales. En gardant en vue le contexte propre à chaque étude et à titre uniquement descriptif, les éléments suivants ont néanmoins pu être dégagés.

► Concernant la technique de prélèvement,

Il ressort des trois études analysées, que la technique de prélèvement ainsi que le matériel utilisé (cytobrosse, brosses type Cervex Brush®, nombre de rotations, nature de l'écouvillon, nombre d'écouvillons utilisés par prélèvement, etc.) pouvaient avoir un impact sur le nombre de cellules recueillies et donc sur la détection des HPV.

► **Concernant le site de prélèvement,**

Quatre études ont évalué l'impact du site de prélèvement sur le taux de détection et sur les génotypes retrouvés. La comparaison du taux de détection d'HPV au niveau des différents sites de prélèvement (cervicaux, vaginaux, labial/vulvaire/périnée) ne retrouve pas de différence significative dans trois études, une quatrième étude montre en revanche que dans les lésions CIN 3, la détection des HPV HR semble être plus importante dans les prélèvements cervicaux (87,5 % versus 75,0 %) comparés aux prélèvements vaginaux mais la différence n'est pas significative.

Des différences sont retrouvées dans deux études au niveau de la cartographie de certains génotypes, avec une plus grande prévalence du type 6 et 32 dans les prélèvements vaginaux (expliquée par les auteurs par la présence de verrues) et une plus grande prévalence des HPV 52 et 16 dans les échantillons cervicaux.

► **Concernant le milieu de transport et de conservation**

Le fabricant de chaque test de détection des HPV décrit dans sa notice d'utilisation le ou les milieux de transport cellulaire avec lesquels il est validé (cf. tableau CNR). Un milieu de transport peut également être « validé » pour une technique de détection à la suite d'expériences réalisées dans un laboratoire et publiées dans une revue scientifique.

Quatre études identifiées correspondent à des études de validation de milieux de conservation avec un test de détection et/ou génotypage donné.

Trois études sur quatre ont validé les milieux UCM®, Easyfix® et Novaprep® pour le HC2. Depuis la publication de ces études, ces trois milieux sont aujourd'hui validés par le fabricant (Qiagen). L'une de ces trois études a validé également l'utilisation du milieu Novaprep® pour le test de génotypage Inno-Lipa®.

La quatrième étude a montré une bonne concordance de détection d'ADN HPV avec un liquide rince bouche (Scope®) et le milieu PreservCyt® pour les deux tests de détection Linear Array® HPV genotyping test et AMPLICOR® MWP.

Enfin, une cinquième étude a décrit l'impact négatif de l'utilisation du milieu PapSpin® sur la détection de l'ADN HPV par PCR utilisant les amorces consensus MY09/MY11. Une différence significative six fois supérieure de la concentration d'ADN est retrouvée entre les contrôles en PBS et les échantillons prélevés en milieu PapSpin® ($p < 0,0001$). La détection d'HPV est 8,9 fois plus fréquente à partir des contrôles en PBS ($p < 0,000001$).

Les cinq études identifiées avaient pour objectif la validation d'un milieu de conservation donné avec une technique de détection donnée et dans toutes ces études des discordances entre les positifs et/ou les négatifs ont été retrouvées pour les différents milieux comparés.

Il est difficile, compte tenu de la diversité des kits de détection disponibles et des milieux de conservation disponibles de l'absence dans la littérature de grandes études ayant pour objectif la comparaison des résultats de détection obtenus avec différents milieux de transport pour un test d'ADN donné, d'émettre une conclusion quant à l'impact sur la sensibilité de détection des tests HPV de l'utilisation d'un milieu de transport qui n'est pas celui recommandé par le fabricant.

► **Concernant les conditions de conservation des prélèvements : durée, température, avec ou sans milieu de transport**

Une seule étude a recherché l'impact du transport des prélèvements sur écouvillons à sec, en comparant les prélèvements cervicaux recueillis à température ambiante et conservés dans du milieu de transport (STM) à ceux recueillis sur écouvillons secs. Il est ressorti que le milieu de transport permettait de maintenir une meilleure intégrité de l'ADN cellulaire et en conséquence une meilleure sensibilité de détection des HPV.

Quatre études ont évalué l'impact de durées de conservation variables sur la sensibilité de détection de l'HPV, au regard des contextes propres à chacune des quatre études qui utilisent pour

trois d'entre elles le test HC2, une sur les trois le test HC2 et le test Amplicor® et la quatrième une PCR quantitative de l'HPV 16, la durée de conservation semble peu impacter la qualité des résultats de détection de l'ADN des HPV.

Deux études montrent des résultats variables concernant l'impact de la température de conservation :

- la première étude montre un taux de concordance des résultats obtenus, sur des prélèvements recueillis dans du milieu SurePath®, avec les tests HPV HC2. Le taux de positivité pour le test Roche AMPLICOR-HPV est plus élevé pour les échantillons réfrigérés (93,9 %) que pour les échantillons à température ambiante (87,6 %). Mais au travers de ces résultats, il est difficile de déterminer quel test de détection est plus sensible à la variation de la température.
- la deuxième étude ne retrouve aucune différence de détection d'HPV par le test HC2 sur 12 prélèvements cervicaux recueillis dans du milieu Thinprep®, conservées à température ambiante depuis huit ans à des échantillons recueillis dans du milieu STM et conservé à -70 °C.

L'impact du prélavage par l'acide acétique glacial sur la sensibilité de détection de l'ADN des HPV a été évalué dans deux études qui arrivent à des conclusions différentes.

Dans la première, la comparaison a été réalisée sur 120 échantillons. Chaque échantillon a été divisé en deux fractions dont l'une a été lavée par une solution (9 :1) (Cytolyte®/acide acétique glacial) et l'autre non traitée. La fréquence de détection observée avec le test HC2 était comparable dans les deux groupes ($p=0.214$).

La deuxième étude a comparé 465 échantillons recueillis dans du milieu ThinPrep®, et traités dans deux structures d'ACP différentes (A et B) par des solutions acide acétique glacial/Cytolyte® respectant respectivement les rapports 1/9 et 1/17. La détection des HPV a été réalisée par hybridation avec le test Cervista® HPV HR. Une diminution plus prononcée du signal de fluorescence de l'ADN a été observée ($p<0.001$) avec un effet plus marqué dans le laboratoire A dont la solution utilisée est plus chargée en acide acétique glacial.

► **Concernant les techniques d'extraction de l'ADN pour les tests d'hybridations**

Les études qui sont décrites dans ce travail avaient pour objectif premier de valider de nouveaux milieux de conservations pour le test HC2, elles ont montré qu'il était possible d'obtenir des résultats comparables à ceux obtenus avec la technique recommandée par le fabricant (Qiagen) mais que cela nécessitait des modifications du protocole d'extraction du fabricant et donc une validation par le laboratoire.

► **Concernant les techniques d'extraction de l'ADN des HPV pour la PCR**

Des trois études analysées, il est ressorti :

- qu'une méthode d'extraction non validée avec le test de détection par PCR de l'ADN d'HPV pouvait impacter de façon très marquée la sensibilité de la détection. En effet, une première étude a montré que l'extraction de l'ADN à l'aide du kit Qiagen MinElute Media (qui n'est pas la technique recommandée par le fabricant pour le test PCR multiplex®) impactait négativement la détection en particulier pour certains types viraux.
- la nécessité en cas d'utilisation de milieux autres que ceux recommandés par le fabricant du test de détection d'HPV, d'apporter des modifications au niveau des protocoles d'extraction afin d'optimiser la détection des HPV. Dans une deuxième étude, il a été montré qu'en intégrant une étape supplémentaire de prélavage du culot cellulaire, il a été possible de valider l'utilisation du milieu SurePath® avec le test de détection Amplicor®.
- Enfin, l'importance des contrôles internes comme indicateurs d'efficacité a été soulignée en particulier par les auteurs d'une troisième étude qui soulèvent le problème potentiel d'une extraction inefficace d'ADN. Ils expliquent en effet que compte tenu du fait que la majorité des protocoles d'extraction d'ADN recommandent un volume standard de l'échantillon de cytologie en milieu liquide, il n'est pas tenu compte dans cette approche de la variabilité cellulaire des

échantillons. Ils recommandent pour cela l'utilisation d'un contrôle interne combiné en temps réel aux procédures d'extraction de l'ADN.

► Concernant la modification des techniques de PCR

Deux études ont évalué l'impact de la modification de la technique de PCR sur la détection d'HPV :

- La première a évalué l'impact d'une modification de la quantité d'ADN en utilisant un volume de 4 µL au lieu des 50µL d'ADN préconisés pour le test Linear Array®. Elle a conclu que la modification de la quantité d'ADN utilisée entraînait des différences de détection à la fois pour le contrôle interne β-globine et pour l'HPV HR.
- La deuxième a montré qu'une augmentation de la température d'annealing (ou hybridation) de 54 à 58°C permettait d'augmenter la détection de la β-globine et ne modifiait pas la détection des HPV par le test Amplicor®.

Au regard de ces deux études il apparaît que toute modification des conditions de PCR impacte la détection du contrôle interne et/ou des HPV.

En conclusion, compte tenu de la multiplicité des milieux de transport, des techniques d'extraction, des techniques de détection et de la variabilité des populations dans les études, il apparaît difficile d'établir des conclusions générales à partir des quelques études identifiées portant sur des points partiels.

Il ressort néanmoins, au regard des éléments qui se dégagent des études en tenant compte de leurs contextes particuliers :

1- l'importance de suivre strictement les instructions des fabricants concernant :

- les techniques de prélèvement,
- l'utilisation des milieux de transport,
- les conditions de conservation (délai et température),
- les techniques d'extraction.

2- la nécessité d'évaluer l'impact potentiel sur la qualité de détection des tests HPV de toute modification apportée aux instructions des fabricants.

3- l'intérêt de valider des protocoles adaptés en cas de modification des paramètres préconisés par le fabricant.

4.4 Synthèse de l'avis des professionnels

Du 24 au 31 mai 2013, onze professionnels (cf. liste des participants à la fin du document), représentant les différentes spécialités concernées par le sujet (1 sage femme, 3 gynécologues, 3 anatomocytologistes, 3 biologistes, 1 infectiologue) ont été auditionnés individuellement sur la base d'un questionnaire préétabli. Ce questionnaire concernait les différentes étapes de la phase pré-analytique du test de détection de l'ADN des HPV. Leurs propos ont fait l'objet de comptes rendus écrits par la HAS et validés par chaque expert auditionné. L'ensemble des éléments recueillis auprès des experts a ensuite fait l'objet de la synthèse qui suit.

Tous les experts ont souligné l'importance de la phase pré-analytique, selon eux, de loin la plus cruciale car elle conditionne le résultat du test et en conséquence la décision médicale en aval. Ils ont par ailleurs confirmé le peu de travaux publiés sur la phase pré-analytique, qui malgré son

importance ne suscite pas beaucoup d'engouement chez les professionnels plus enclins à publier sur l'efficacité des techniques. L'évaluation de la HAS leur a donc semblé tout à fait opportune.

Ils ont par ailleurs rappelé la spécificité du contexte organisationnel du test de détection des HPV, et souligné les éléments suivants :

- trois intervenants différents : le clinicien qui réalise le FCU (gynécologue, médecin généraliste, sage-femme), l'ACP qui réalise la cytologie, le biologiste médical ou l'ACP qui réalise la détection du test HPV,
- la complexité logistique pour l'ACP qui doit garder ce prélèvement un certain temps avant que le gynécologue ne décide de la conduite à tenir en cas d'ASC-US, (la recherche d'HPV étant l'une des trois options possibles de conduite à tenir devant un frottis ASC-US qui ne représente qu'environ 3 % des cytologies),
- la position en fin de chaîne des biologistes et/ou des ACP, qui réalisent le test, à qui il est demandé une fiabilité des résultats sur un prélèvement dont ils n'ont pas géré toute la phase pré-analytique.

Dans un tel contexte, les experts ont insisté sur une bonne coordination des différents intervenants, prérequis à une réalisation optimale de la phase pré-analytique. Cette coordination passe par un accord *a priori* entre les anatomopathologistes et les professionnels qui réalisent la recherche de l'HPV (biologistes médicaux ou ACP) sur le choix du milieu dans lequel est déchargé le FCU. Ce milieu doit être compatible avec les techniques choisies d'une part pour la cytologie et d'autre part pour la recherche de l'HPV. Les informations échangées doivent aussi porter sur les conditions optimales de conservation (température et durée) et sur d'éventuels traitements des FCU. La coordination passe également par un recueil et une transmission des informations cliniques et techniques (via une fiche de transmission) d'une étape à l'autre de la phase pré-analytique.

- Les éléments qui ressortent de l'interrogation des experts sur la bonne réalisation de la phase pré-analytique du test de détection des HPV sont présentés ci-dessous. Ils s'inspirent par ailleurs, comme l'ont rappelé les experts, des règles présentes dans le GBEA et dans la norme NF EN ISO 15189.

► Identification et traçabilité des prélèvements

- Identifier et étiqueter des prélèvements en respectant la concordance entre l'échantillon prélevé et l'identité de la patiente.
- Assurer la traçabilité des prélèvements via une fiche de transmission qui doit recueillir les informations suivantes :
 - Identification du prescripteur ;
 - Renseignements administratifs (nom et prénom de la patiente, adresse, N° de sécurité sociale) ;
 - Renseignements cliniques : date des dernières règles, aménorrhée, grossesse, ... etc.
 - Antécédents d'HPV ;
 - Statut vaccinal anti HPV ;
 - Date et heure du prélèvement ;
 - Localisation du prélèvement : col, endomètre, autre... ;
 - Conditions de conservation (délai et température) ;
 - Traitements éventuels des FCU ;

Cette fiche pourrait également permettre au clinicien d'indiquer s'il souhaite qu'une recherche d'HPV soit réalisée à la suite d'une cytologie ASC-US.

► Conditions optimales pour la réalisation d'un FCU en phase liquide

Dès lors que le prélèvement servira d'abord à l'examen cytologique, les experts considèrent que les règles préconisées pour un FCU optimal pour la cytologie en phase liquide doivent prévaloir pour le test HPV qui suivra éventuellement, avec en plus une grande vigilance vis-à-vis des inhi-

biteurs de la PCR. Les experts rappellent qu'il est indispensable d'éviter tout matériel de prélèvement dur qui peut provoquer le saignement (hémoglobine, inhibiteurs de PCR) et d'éviter la présence de produits chimiques locaux, médicaments, lubrifiants et gels également inhibiteurs de PCR.

Ainsi, les conditions optimales pour la réalisation et le transport d'un FCU en milieu liquide sont assez claires:

- le site de prélèvement privilégié se situe au niveau de la zone de jonction endocol/exocol ;
- le frottis, doit être réalisé sous contrôle visuel avec un spéculum adapté à l'âge et à la morphologie de la patiente ;
- éviter l'utilisation de lubrifiants avec le spéculum ;
- éviter le prélèvement pendant la période des règles ;
- éviter toute sollicitation physico-chimique (lubrifiant, savon, colposcopie....) en amont de la réalisation du frottis ;
- utiliser les œstrogènes (quatre à cinq jours avant) chez les femmes ménopausées pour faciliter le prélèvement au niveau de l'endocol ;
- éviter un matériel de prélèvement dur (en bois ou en plastique rigide) pour ne pas faire saigner ;
- éviter un matériel de prélèvement absorbant pour ne pas altérer la cellularité des prélèvements (porte-coton) ;
- privilégier un matériel en plastique souple ;
- éviter les spatules d'Ayre sauf pour les femmes ménopausées en raison de la sténose et de l'obstruction de l'orifice externe du col utérin ;
- broser la totalité de l'orifice cervical externe et l'endocol avec les cyto-brosses ou les brosses types Cervex-Brush® ou autres brosses en opérant une rotation de 360 ° (deux ou trois tours) ;
- décharger immédiatement le prélèvement dans le milieu de transport validé avec le test de détection d'HPV, conformément aux instructions du fabricant.

► Importance de la cellularité des prélèvements

Les experts ont rappelé que le plus important au niveau de la réalisation du frottis en phase liquide était l'obtention d'un nombre suffisant de cellules à la fois de l'endocol et de l'exocol. Une faible cellularité des prélèvements peut avoir un impact négatif sur la sensibilité du test de détection d'HPV.

► Transport et conservation des prélèvements pour les tests HPV

Les experts ont rappelé une particularité française, à savoir la disponibilité sur le marché de près de 17 milieux liquides différents pour la cytologie. Ces milieux, prévus à l'origine pour la cytologie, ne sont pas tous validés pour la recherche d'HPV, d'autant plus qu'il existe plusieurs techniques de recherche de l'HPV.

Ainsi, les experts recommandent pour le transport et la conservation des prélèvements destinés aux tests de détection d'HPV, de respecter les principes de bonne pratique de biologie moléculaire et les instructions des fabricants des tests de détection d'HPV en :

- évitant les composants utiles pour la cytologie mais délétères pour la détection HPV : les experts ont souligné que les problèmes engendrés par une utilisation de milieux non validés qui peuvent contenir des inhibiteurs de PCR ;
- utilisant strictement les milieux de transport validés par le fabricant du test de détection d'HPV ;
- respectant les préconisations du fabricant en matière de délai et de température de transport et de conservation ;
- évitant les cycles de congélation/décongélation des acides nucléiques.

Pour l'emballage et le transport, les experts recommandent de :

- vérifier l'étanchéité des flacons avant envoi ;
- réaliser un emballage qui soit approprié à la nature et à la composition du milieu de transport et qui respecte l'intégrité du prélèvement et la sécurité des personnes.

► Importance de l'assurance qualité

La notion de mise en place de procédures d'assurance qualité intra-laboratoire et inter-laboratoire pour l'examen de HPV a également été soulignée par certains experts.

Pour les ACP interrogés, les démarches de qualité et de bonnes pratiques sont actuellement volontaires dans le cadre par exemple de l'AFAQAP, il n'existe pas encore de cadre réglementaire défini, contrairement aux laboratoires de biologie médicale qui ont l'obligation de suivre actuellement le GBEA et une fois qu'ils seront accrédités de la norme NF EN ISO 15189. La norme NF EN ISO 15189 ne peut être appliquée *in extenso* pour l'exercice de l'ACP. Néanmoins, ils ont à l'unanimité rappelé, conformément aux recommandations de l'AFAQAP, l'intérêt de respecter les bonnes pratiques édictées par le GBEA pour les actes de biologie moléculaire.

► Autres aspects soulevés par les experts lors des auditions

Au décours de ces auditions qui concernaient les conditions pré-analytiques, des experts ont tenu à souligner divers aspects relevant de la phase analytique ou post-analytique ou encore de spécificités propres à certaines professions.

Les tests géotypage

Certains experts ont souligné la multiplicité des tests de détection de l'HPV utilisés en pratique en France avec des seuils différents de détection et des résultats de nature différente, spécificité *a priori* française, qui serait à l'origine de problème d'interprétation du résultat du test HPV.

Ils ont rappelé que les tests HPV « historiques » pour lesquels la performance clinique a été évaluée et sur lesquels reposent les recommandations actuelles ont des seuils compris entre 500 et 5000 copies/mL et sont des tests qualitatifs (présence ou absence d'HPV oncogènes).

Il existe des tests de géotypage plus récents, précisant le type d'HPV et pouvant détecter jusqu'à 20-30 copies/mL d'HPV. La pertinence clinique d'un si faible seuil n'a cependant pas été démontrée, leur utilisation pour le triage des ASC-US n'a pas été validée et aucune recommandation existante ne peut servir d'appui à l'interprétation de la présence de certains géotypes.

Pour illustrer ces propos, un des experts a rappelé que l'HPV « *n'est pas un marqueur tumoral* ». et que la notion de charge virale dans ce contexte n'a pas de signification clinique. En effet, la présence d'HPV signe la présence d'une infection plus ou moins ancienne, mais qui est éliminée dans 80 à 90 % des cas et seules les infections persistantes à HPV sont à risque de développement de lésions cervicales de haut grade.

Le rendu des résultats

Outre la spécification du test, de son seuil de détection, il a été souligné l'importance de spécifier également la structure qui a réalisé le test (dans le cas où l'ACP qui a réalisé la cytologie n'a pas réalisé la recherche de l'HPV et rend les deux résultats au clinicien).

La transmission des résultats du test HPV à la patiente

Plusieurs experts se sont interrogés sur la pertinence de la transmission du résultat du test HPV à la patiente, directement par courrier, en particulier quand ce résultat est positif⁹. Les experts

⁹ Pour la biologie médicale, le rendu du résultat au patient est encadré juridiquement. En effet, l'article L. 6211-2 du code de la santé publique précise que : « La phase post-analytique, qui comprend la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que la communication appropriée du résultat au prescripteur et, dans les conditions fixées à l'article L. 1111-2, au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art ». Cet article prévoit donc que la communication du résultat au patient doit se faire de manière appropriée. Cette notion se retrouve aussi dans le sous-chapitre 5.1 du GBEA (arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale) : « Un résultat

invoquent la complexité d'interprétation propre à l'infection HPV (voir ci-dessus), qui doit se faire à la lumière du contexte clinique et ACP.

Le résultat devrait donc selon eux être annoncé par le clinicien qui aura fait la synthèse de toutes les données (cliniques, cytologiques et virologiques) afin d'éviter à la patiente toute angoisse inutile.

Comme pour les conditions pré-analytiques, une concertation préalable entre les différents acteurs (cliniciens, anatomocytopathologistes, biologistes) quant à la manière dont doit être rendu le résultat de la recherche d'HPV, ainsi que celui de cytologie, doit être mise en place.

Pour le cas particulier des sages-femmes

Il a été souligné la nécessité de mettre en place des outils d'information, pour rappeler les mesures concernant le circuit de recueil et de transmission des informations en raison de :

- la spécificité du FCU, seul examen pour lequel la sage-femme est en lien direct avec la structure d'anatomocytopathologie ;
- la mise en place progressive de consultations préventives de gynécologie au sein de la profession ;
- l'importance d'un seuil d'activité suffisant qui permet d'une part d'avoir une maîtrise technique du geste et aussi une organisation fonctionnelle optimale.

Il a également été rappelé que le rôle de la sage-femme était de suivre les femmes dans un contexte non pathologique et qu'en cas de résultat cytologique anormal, la sage femme a l'obligation d'adresser la patiente au gynécologue.

Le non respect des instructions d'utilisation

Il a été souligné, lors des auditions, l'importance de suivre strictement les instructions du fabricant. Le non respect de ces dernières peut exonérer le fabricant de toute responsabilité et engager celle de l'effecteur¹⁰.

laissant présager un pronostic grave ou fatal ne doit être révélé qu'avec la plus grande circonspection. », « Tout résultat préoccupant que le biologiste est amené à remettre ne peut être communiqué au patient qu'en main propre et au cours d'un entretien particulier. ». Cette notion de communication appropriée apparaît opportune et adaptée au cas de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes.

Pour l'anatomie et la cytologie pathologiques, il n'existe aucun texte législatif et réglementaire spécifique encadrant le rendu du résultat au patient.

Par ailleurs, l'article L. 1111-7 du code de la santé publique prévoit que « Toute personne a accès à l'ensemble des informations concernant sa santé détenues, à quelque titre que ce soit, par des professionnels et établissements de santé, [...] ». Ainsi, lorsqu'une patiente demande son résultat d'examen, en l'espèce celui de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes, le professionnel de santé (biologiste médical ou anatomocytopathologiste) est dans l'obligation de le lui fournir.

¹⁰ Conformément aux dispositions du code civil régissant la responsabilité du fait des produits défectueux, un producteur est responsable du dommage causé par son produit si ce dernier est défectueux (article 1386-1 du code civil) ; c'est-à-dire s'il n'offre pas la sécurité à laquelle on peut légitimement s'attendre (article 1386-4 du code civil). L'appréciation de la sécurité à laquelle on peut légitimement s'attendre prend notamment en compte l'usage qui peut être raisonnablement attendu du produit (article 1384-6 du code civil). Ainsi, les dommages causés par le non respect des instructions d'utilisation du fabricant et qui n'ont pas pour origine un défaut, n'engagent pas la responsabilité du fabricant sur le fondement de ces dispositions.

Dans l'hypothèse où les instructions du fabricant ne seraient pas suivies, c'est le principe général de la responsabilité prévu à l'article 1382 du code civil qui pourra s'appliquer lequel dispose « *Tout fait quelconque de l'homme, qui cause à autrui un dommage, oblige celui par la faute duquel il est arrivé à le réparer* », ce qui engage alors l'utilisateur du matériel.

En conclusion, les professionnels de santé interrogés ont préconisé de respecter, pour une phase pré-analytique optimale en général :

- Les règles de bonnes pratiques concernant l'identification, la conservation, le transport des prélèvements et la mise en place des procédures de contrôle de qualité interne et externe. Ces règles rejoignent en général les préconisations du GBEA.
- Les principes de bonne pratique de biologie moléculaire (ex : en évitant les inhibiteurs de PCR [sang et produits chimiques], limitant les cycles de congélation-décongélation, etc.).

Dans le contexte particulier du test HPV, les points à respecter sont selon les professionnels interrogés :

- Une bonne coordination des différents intervenants de la chaîne (gynécologues, ACP et biologistes).
- Respecter de préconisations relatives à la réalisation d'un FCU optimal.
- La traçabilité du FCU avec la transmission d'une fiche avec identification du prescripteur et recueillant les renseignements administratifs, les enseignements cliniques, la date et l'heure du prélèvement, la localisation du prélèvement, les conditions de conservation (délai et température) et les informations sur les gestes techniques et les éventuels prétraitements réalisées sur les échantillons depuis le prélèvement jusqu'à l'arrivée au laboratoire qui réalise la détection de l'HPV.
- S'assurer d'une bonne cellularité des prélèvements avec à la fois des cellules de l'endocol et de l'exocol.
- Utiliser un milieu de transport qui soit validé par les fabricants pour la cytologie, et la recherche d'HPV si le prélèvement est destiné aux deux analyses.
- Utiliser un milieu de transport qui soit validé par les fabricants pour la recherche d'HPV si le prélèvement n'est destiné qu'à cette analyse.
- Respecter des préconisations du fabricant du test HPV en matière de transport et de conservation (délai et température).
- Utiliser un emballage approprié à la nature et à la composition du milieu de transport.

5. Conclusion générale

Le présent travail avait pour objectif l'évaluation des conditions pré-analytiques de réalisation de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de frottis cervico-utérins (FCU). Il s'agissait :

- d'identifier les facteurs pré-analytiques susceptibles d'interférer avec les résultats de cette recherche ;
- d'établir les conditions de réalisation de la phase pré-analytique de cette recherche.

La phase pré-analytique de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes comprend la réalisation du FCU (*i.e.* prélèvement des cellules du col), le recueil et la transmission de l'ensemble des éléments pertinents, le dépôt du FCU dans un milieu de conservation, son transport et sa conservation jusqu'à l'endroit et jusqu'au moment où la recherche d'HPV est effectuée. Il est à noter qu'une partie du FCU recueilli dans le milieu de conservation peut être utilisée pour réaliser la cytologie (lorsqu'elle est réalisée en phase liquide).

Ces conclusions s'appuient sur une analyse juridique des textes réglementaires identifiés, une analyse critique des recommandations professionnelles et des études identifiées de la littérature scientifique ainsi que sur le recueil de la position des professionnels dans le cadre d'auditions individuelles.

Concernant les facteurs pré-analytiques susceptibles d'interférer avec les résultats de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de frottis FCU

Peu d'études ont été identifiées. Elles portent sur des points partiels et ne permettent pas, compte tenu de la multiplicité des milieux de transport, des techniques d'extraction, des techniques de détection, de la variabilité des populations dans les études et de l'absence de données comparatives, de conclure – en particulier pour l'objet qui a motivé cette saisine – quant à l'impact que pourrait avoir l'utilisation d'un milieu de transport non validé par le fabricant sur la qualité de détection d'un test HPV donné. Cette conclusion prévaut pour tous les autres paramètres de la phase pré-analytique (prélèvement, transport et conservation, libération des acides nucléiques, etc.) susceptible d'impacter la sensibilité de détection des tests HPV.

Néanmoins, au regard des éléments qui se dégagent des études en tenant compte de leurs contextes particuliers, certains éléments peuvent être dégagés :

- 1) l'importance de suivre strictement les instructions des fabricants des différents matériels utilisés (matériel pour le prélèvement du FCU, liquide de conservation, réactifs et automates pour la cytologie et pour la recherche du génome [ADN] des HPV oncogènes) concernant :
 - les techniques de prélèvement,
 - l'utilisation des milieux de transport,
 - les conditions de conservation (délai et température),
 - les techniques d'extraction.
- 2) la nécessité d'évaluer l'impact potentiel sur la qualité de détection des tests HPV de toute modification apportée aux instructions des fabricants et l'intérêt de valider des protocoles adaptés en cas de modification des paramètres préconisés par les fabricants.

Concernant les conditions de réalisation de la phase pré-analytique de la recherche du génome (ADN) des HPV oncogènes à partir de FCU

Dans le contexte organisationnel particulier de cette recherche, la définition des bonnes pratiques de réalisation de la phase pré-analytique est d'autant plus importante qu'elle fait appel à

plusieurs intervenants, plusieurs milieux de transport, plusieurs trousse de détection et plusieurs circuits de transmission.

En effet, après prélèvement du FCU par un professionnel de santé (médecin, sage-femme), celui-ci est déchargé dans un flacon avec un milieu de transport. Plusieurs milieux de transport existent, ils peuvent être soit validés pour la cytologie, soit pour la recherche d'HPV soit pour les deux examens. Plusieurs tests HPV existent, et cette multiplicité fait que même si un milieu de transport est validé pour un test de détection donné, il ne l'est pas forcément pour tous les autres tests. A cette complexité se rajoute l'existence de deux types de cytologie : une cytologie conventionnelle (sur lame) et une cytologie en phase liquide qui seule permet la réalisation du test HPV sur le même prélèvement. Il faut noter également que la recherche d'HPV ne représente qu'une des trois options possibles préconisées par les recommandations en vigueur à suite d'une cytologie identifiant une ASC-US. L'ACP doit dans ce contexte conserver le prélèvement dans l'attente de la décision du clinicien.

Enfin, il convient également de rappeler que la détection d'HPV est un « acte frontière » qui peut être réalisé par :

- les biologistes médicaux soumis aux exigences législatives et réglementaires (GBEA actuellement et norme NF EN ISO 15189 dans le cadre de l'accréditation) ;
- les ACP à qui ces exigences ne s'appliquent pas mais pour lesquels existent des recommandations de bonnes pratiques établies par la profession qui préconisent de suivre les directives du GBEA pour les examens faisant appel aux techniques de biologie moléculaire (comme c'est le cas pour la recherche des HPV oncogènes).

Ainsi, selon que le frottis en phase liquide est réalisé en première intention pour la cytologie et/ou pour la détection d'HPV et selon que le test d'HPV est réalisé au laboratoire de biologie médicale ou dans la structure d'ACP, le frottis en phase liquide peut emprunter différents circuits :

- si le prélèvement destiné en première intention à la cytologie, le FCU est déchargé dans un milieu de transport qui doit convenir à la cytologie et à la recherche d'HPV, il est adressé par le clinicien à la structure d'ACP qui en cas de frottis ASC-US et après avis du clinicien :
 - l'adressera au laboratoire de biologie médicale ou à une autre structure ACP pour la réalisation du test HPV ;
 - ou réalisera le test HPV elle-même si elle dispose de la technique de détection ad hoc.
- si le FCU est destiné en première intention au test HPV (après diagnostic ASC-US sur frottis conventionnel), le frottis est déchargé dans un milieu conforme à la recherche d'HPV et ensuite adressé par le clinicien au laboratoire de biologie médicale ou à la structure d'ACP.

Dans un tel contexte, très multifactoriel, si toutes les étapes ne sont pas coordonnées et réalisées conformément aux bonnes pratiques et aux règles d'assurance qualité, les risques d'erreurs peuvent être multiples.

En conclusion, les principales préconisations qui ressortent de ce travail sont :

- La coordination et la transmission des informations relatives à toutes les étapes pré-analytiques entre l'ensemble des professionnels de santé intervenant dans ce contexte, quels que soient leurs lieux et leurs modes d'exercice.
- Le respect des règles de bonne pratique édictées par le GBEA (opposables pour les biologistes et recommandés par l'AFAQAP pour les ACP) en matière d'identification, de conservation et de transport des prélèvements, afin d'assurer à toutes les patientes, le même niveau d'exigence quant à la qualité de l'examen, et ce quel que soit le professionnel le réalisant.
- Le respect des procédures de réalisation d'un frottis cervico-vaginal optimal (conditions cliniques, matériel, technique et site de prélèvement).
- Le respect des principes de bonne pratique de biologie moléculaire :
 - éviter les inhibiteurs de PCR (sang et produits chimiques) ;
 - s'assurer d'une cellularité suffisante ;
 - limiter les cycles de congélation-décongélation.
- L'utilisation des milieux de transport conformément à la réglementation en vigueur c'est-à-dire :

Si le milieu de transport est marqué CE et que la trousse de détection est également marquée CE, respecter les préconisations de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) en utilisant une combinaison validée par les fabricants afin de ne pas porter atteinte aux performances prévues des dispositifs.

Dans les autres situations (cf. ci-dessous), les techniques devront être validées scientifiquement, s'appuyer sur des références bibliographiques et faire l'objet de procédures et de modes opératoires détaillés :

- combinaison d'un milieu de transport « maison » avec une trousse de détection marquée CE ;
- combinaison d'un milieu de transport marqué CE avec une trousse de détection « maison » ;
- combinaison d'un milieu de transport marqué CE mais non validé par le fabricant de la trousse de détection (marquée CE) utilisée.

En s'appuyant sur une analyse des préconisations générales du GBEA, des recommandations professionnelles de bonne pratique et des propos recueillis auprès des professionnels auditionnés, qui par ailleurs sont concordants, les éléments suivants ont pu être établis concernant :

- l'identification des prélèvements et la transmission des informations ;
- les modalités de réalisation du frottis cervico-vaginal en vue de la recherche du génome d'HPV ;
- le transport et la conservation des FCU en phase liquide ;
- les précautions à respecter à l'arrivée dans la structure qui réalise le test.

Identification des prélèvements et transmission des informations

1. La structure qui réalise le test HPV (structure d'ACP ou laboratoire de biologie médicale) fournit aux cliniciens réalisant le FCU (gynécologue, médecin généraliste, sage-femme, etc.) et aux ACP toutes les précisions utiles aux conditions de mise en œuvre du test HPV ;
2. Les échantillons sont associés à une « *fiche de suivi médical* », adressé au laboratoire ou au cabinet de cytologie, comportant tous les renseignements nécessaires à la bonne exécution des analyses et à l'interprétation des résultats et comportant les éléments suivants :
 - identification du prescripteur ;
 - le prénom et le nom de la patiente (nom de jeune fille) ;
 - la date du prélèvement ;
 - la date de naissance ;
 - la date des dernières règles ou indiquer si la femme est ménopausée ;
 - le motif de l'examen (dépistage, contrôle) ;
 - les éventuels antécédents gynécologiques et thérapeutiques (traitement du col, chimiothérapie, hormonothérapie, radiothérapie) ;
 - le type de contraception utilisée (contraception hormonale, dispositif intra-utérin) ;
 - la localisation du prélèvement ;
 - les conditions de conservation (délai et température) ;
 - toutes les informations sur les gestes techniques et les éventuels prétraitements réalisés depuis le prélèvement jusqu'à l'arrivée au laboratoire qui réalise la détection de l'HPV (ex : éventuels traitement par acide acétique, cas des frottis réalisés hors conditions optimales chez les femmes n'ayant pas de suivi gynécologique régulier¹¹).
3. Le récipient destiné à recevoir l'échantillon biologique est adapté à la nature de l'échantillon et à celle des analyses.
4. L'étiquetage est conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne. Il mentionne, outre l'identité et la date de naissance, le nom de jeune fille, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur et la date du prélèvement.
5. Si la taille du tube ne permet pas l'apposition d'une étiquette comportant l'ensemble des renseignements précités, ce tube étiqueté est placé dans un récipient individuel où toutes les indications ci-dessus sont mentionnées de façon à éviter toute erreur.
6. Le biologiste ou l'ACP met en place une procédure permettant de lier l'échantillon biologique au patient, même si l'identité de celui-ci est incomplète ou approximative.
7. Si un étiquetage code-barres est utilisé, il ne doit pas masquer les renseignements énoncés en clair.
8. Lors de la préparation de fractions aliquotes, l'étiquetage des tubes ou récipients secondaires se fait selon les procédures rigoureuses permettant l'identification sans ambiguïté de chaque échantillon.

¹¹ Lors de l'audition des professionnels, il a été souligné le cas particulier des femmes n'ayant pas de suivi gynécologique régulier et chez qui le médecin privilégiera avant tout la réalisation d'un FCU, « quelles que soient les conditions », plutôt que d'attendre que les conditions idéales soient réunies. Les professionnels ont néanmoins rappelé que ceci devait systématiquement signalé dans la fiche de suivi.

Modalités de réalisation du frottis cervico-vaginal en vue de la recherche du génome des HPV

1. Le prélèvement est effectué par un professionnel de santé (médecin, sage-femme).
2. Les conditions optimales de réalisation d'un FCU, doivent autant que possible respecter les consignes suivantes :
 - éviter le prélèvement pendant la période des règles ;
 - éviter les contextes d'inflammation ou d'infection vaginale ;
 - éviter les rapports sexuels dans les 24 heures ;
 - éviter la grossesse, le post-partum et l'allaitement ;
 - éviter toute sollicitation physico-chimique en amont de la réalisation du frottis : examen vaginal, crème ou liquide désinfectant, gel lubrifiant, médicaments vaginaux, douche vaginale ou gel spermicide (moins de 24 heures avant), coloscopie préalable avec l'acide acétique (moins de 24 heures avant), frottis (moins de trois semaines avant), chirurgie cervicale (moins de trois mois avant) ; radiothérapie ;
 - utiliser les œstrogènes (quatre à cinq jours avant) chez les femmes ménopausées pour faciliter le prélèvement au niveau de l'endocol.
3. Le site de prélèvement privilégié se situe au niveau de la zone de jonction endocol/exocol.
4. Le frottis est réalisé sous contrôle visuel avec un spéculum adapté à l'âge et à la morphologie locale de la patiente.
5. Le prélèvement concerne la totalité de l'orifice cervical externe et l'endocol.
6. Éviter un matériel de prélèvement dur (qui provoque le saignement) ou un matériel absorbant (coton) et privilégier un matériel en plastique souple pour d'une part limiter les saignements (ce qui peut apporter des inhibiteurs de PCR) et d'autre part recueillir le maximum de cellules (le FCU peut aussi être utilisé pour réaliser une cytologie).
7. Éviter les spatules d'Ayre, sauf pour les femmes ménopausées en raison de la sténose et de l'obstruction de l'orifice externe du col utérin.
8. Brosser la totalité de l'orifice cervical externe et l'endocol avec le matériel recommandé par le fabricant du milieu de transport et en opérant autant de rotations que préconisé par le fabricant.
9. Décharger immédiatement le prélèvement dans un milieu de transport validé pour la technique qui sera ensuite utilisée pour rechercher le génome (ADN) des HPV oncogènes, conformément aux instructions des fabricants ou conformément aux procédures propres de la structure qui effectue la recherche le test de détection d'HPV.

Transport et conservation des FCU déchargés en phase liquide

1. Le transport des FCU respecte les règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels.
2. Des procédures et des modes opératoires écrits par la structure qui effectue le test HPV fixent les conditions particulières de délai de transport, de température de conservation et d'intégrité de l'emballage des échantillons biologiques.
3. Le transport des FCU s'effectue le plus rapidement possible du cabinet à la structure qui réalise le test HPV en prenant toutes les précautions pour éviter les risques de contamination et de dégradation des constituants.
4. Le ou les récipients étanches contenant les prélèvements doivent être insérés dans une boîte étanche, tapissée par un matériau absorbant et l'ensemble placé dans un emballage extérieur résistant, portant les noms et adresses du laboratoire destinataire et de l'expéditeur.
5. L'étiquetage et la résistance des emballages doivent être conformes à la réglementation en vigueur.
6. La « fiche de suivi médical » (décrite plus haut) ou sa copie ou, à défaut, une fiche de renseignements établie par la structure qui réalise le test HPV, doit être associée au prélèvement.
7. Les dates et les heures de réception des prélèvements à la structure destinatrice doivent être enregistrées.
8. Les conditions de conservation doivent être conformes aux règles de sécurité et d'hygiène en vigueur pour éviter toute contamination du personnel ou toute pollution.
9. Les conditions d'identification, de fermeture des récipients et de température de conservation doivent être rigoureusement observées pour éviter tout risque d'erreur, de modification qualitative et/ou quantitative et de contamination.
10. Les conditions de conservation, température et durée, doivent être fixées par la structure qui réalise le test et inscrites sur ses procédures opératoires ; elles doivent être conformes aux instructions du fabricant du test HPV.
11. Si les tests de détection ne sont pas réalisés à la suite, les échantillons et leurs fractions aliquotes peuvent être soit congelés directement dans le milieu de transport et conservés à -70 °C soit préalablement centrifugés, dans ce dernier cas le traitement du culot d'ADN devra être réalisé selon les recommandations du fabricant du test.

A l'arrivée au niveau de la structure qui réalise le test HPV

1. Le biologiste médical ou l'ACP vérifie la conformité des prélèvements acceptés dans sa structure en fonction des techniques et procédures qui y sont pratiquées.
2. Il s'assure de la cellularité suffisante des prélèvements et de l'absence d'inhibiteur de PCR (qui sont deux facteurs pouvant donner lieu à des résultats faussement négatifs).
3. Il est en droit de refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires.

Fiche descriptive

Intitulé	Descriptif
Méthode de travail	Évaluation d'une technologie de santé
Date de mise en ligne	Octobre 2013
Date d'édition	Uniquement disponible sous format électronique sur www.has-sante.fr
Objectif(s)	<ul style="list-style-type: none"> - 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 - Définir les bonnes pratiques de réalisation permettant de garantir la qualité des résultats
Professionnel(s) concerné(s)	Cf. chapitre 3.2 du rapport d'évaluation technologique
Demandeur	Le Centre national de référence (CNR) des papillomavirus humains (<i>Human Papilloma Virus</i> – HPV)
Promoteur	Haute Autorité de Santé (HAS) : Service évaluation des actes professionnels (SEAP) & Mission Juridique (MJ)
Pilotage du projet	<p>Coordination : Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP (chef de service : Michèle MORIN-SURROCA, adjoint au chef de service : Denis-Jean DAVID), en collaboration avec Catherine DELAMARE, chargée de projet, SEAP</p> <p>Analyse juridique : Pauline AUBRY, chef de projet, MJ, sous la responsabilité de Christine VINCENT</p> <p>Secrétariat : Christine MAYOL, assistante, SEAP</p>
Participants	<p>Expertise externe à la HAS :</p> <p>Geneviève AILLET, Christine BERGERON, Christine CLAVEL-CRAVOISIER, Isabelle HEARD, Jean LEVÉQUE, Jean-Luc MERGUI, Hélène PEIGUE-LAFEUILLE, Michèle RIVIÈRE, Jean-Luc SCHMIT, Henri SEVESTRE, Jean-Paul TAAR</p> <p>Cf. chapitre 3.2.3 du rapport d'évaluation technologique</p>
Recherche documentaire	<p>De novembre 2011 à avril 2013 (stratégie de recherche documentaire décrite en annexe 2 du rapport d'évaluation technologique)</p> <p>Réalisée par Sophie DESPEYROUX, documentaliste, avec l'aide de Renée CARDOSO, assistante documentaliste, sous la responsabilité de Frédérique PAGÈS, chef du Service documentation – information des publics, et Christine DEVAUD, adjointe au chef de service</p>
Auteurs de l'argumentaire	<p>Nadia ZEGHARI-SQUALLI, chef de projet, SEAP, sous la responsabilité de Denis-Jean DAVID, adjoint au chef de service, SEAP en collaboration avec Catherine DELAMARE, chargée de projet, SEAP</p> <p>Pauline AUBRY, chef de projet, MJ, sous la responsabilité de Christine VINCENT</p>
Validation	<p>Examen par la Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé (CNEDI-MTS) : 23 juillet 2013</p> <p>Collège de la HAS : 2 octobre 2013</p>
Autres formats	Pas d'autre format que le format électronique disponible sur www.has-sante.fr
Documents d'accompagnement	Rapport d'évaluation technologique, Annexes du rapport d'évaluation technologique, Décision HAS (octobre 2013), disponibles sur www.has-sante.fr



Toutes les publications de l'HAS sont téléchargeables sur
www.has-sante.fr