

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**ADN Papillomavirus**

**11HPV1**

**décembre 2011**

**Détection ADN Papillomavirus : ADN-HPV**

#

**Juin 2012**

#

Francis POISSON et Muriel DURAN CORDOBES (ANSM) <sup>(1)</sup>

Isabelle HEARD et Michel FAVRE (CNR papillomavirus - Institut Pasteur- Paris)

<sup>(1)</sup> L'ANSM se substitue à l'Afssaps depuis le 1<sup>er</sup> mai 2012

Expédition	14 novembre 2011
Clôture	12 décembre 2011
Edition des compte-rendus individuels	15 février 2012
Paramètres contrôlés/Echantillons	<b>ADN de papillomavirus</b> <b>2 panels de codage différent ont été envoyés :</b> <b>11HPA1, 11HPA2, 11HPA3, 11HPA4, 11HPA5 et</b> <b>11HPB1, 11HPB2, 11HPB3, 11HPB4, 11HPB5</b>
Nombre de laboratoires concernés*	76
Nombre de laboratoires participants**	74

\* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi et ayant reçu le colis de l'opération

\*\*Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération.

## Résumé de l'opération

Les objectifs de l'opération de contrôle 11HPV1 étaient de :

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

Le CNR HPV et l'Afssaps ont réalisé en commun cette opération de Contrôle National de Qualité des examens de recherche du génome viral de papillomavirus (HPV)

Une enquête préalable a été réalisée auprès de laboratoires de biologie médicale pour connaître leur activité concernant la détection des HPV. Soixante quatre des 73 laboratoires ayant reçu le questionnaire ont répondu réaliser ce test et ont participé au contrôle national de qualité. Par ailleurs, 10 laboratoires d'anatomo-cytopathologie pratiquant la détection/génotypage des HPV et collaborant avec le CNR ou ayant participé à l'opération de contrôle de qualité externe réalisée par le CNR en 2010 ont été également questionnés. Au total, le nombre de laboratoires ayant participé à cette opération a été de 74 : 64 laboratoires de biologie médicale et 10 laboratoires d'anatomo-cytopathologie.

Deux panels de 5 échantillons ont été constitués afin de tenir compte, d'une part de la nécessité d'utiliser un milieu spécifique pour le test « Hybrid capture 2 (HC2) » (Qiagen), et d'autre part, des différences de sensibilité pour la détection des HPV et en particulier du HPV 16 (5000 copies pour le test HC2 contre moins de 500 pour les autres).

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

Les résultats de cette opération de contrôle sont satisfaisants avec seulement 6 résultats faussement négatifs : 3 avec le panel A parmi les 63 réponses et 3 avec le panel B parmi les 16 réponses.

En ce qui concerne le rendu des résultats aux cliniciens, cette opération a mis en évidence l'hétérogénéité des informations transmises.

## Panels d'échantillons

Panel A ADN HPV : 11HPA1, 11HPA2, 11HPA3, 11HPA4, 11HPA5

Panel B ADN HPV : 11HPB1, 11HPB2, 11HPB3, 11HPB4, 11HPB5

### Définition des échantillons

Les laboratoires ont reçu un panel de 5 échantillons :

- panel B pour les utilisateurs du réactif Hybrid Capture 2 (HC2) Qiagen,
- panel A pour les autres réactifs.

Cette préparation spécifique (panel B) pour la réactif Hybrid Capture 2 (HC2) Qiagen a été réalisée en raison de la spécificité du milieu de transport utilisable et de la différence de sensibilité de ce réactif par rapport aux autres. Les échantillons du panel B devaient être repris avec 250 µl du réactif de dénaturation de la trousse Qiagen. L'échantillon 11HPB1 a été volontairement préparé à une concentration à la limite du seuil de détection de la technique afin d'analyser les réponses transmises au clinicien dans cette situation.

tableau I – Définition des échantillons des panels A et B

Nom	Définition panel A	Nombre de cellules HPV+/ml
11HPA1	Présence d'HPV oncogène (HPV16)	12 500
11HPA2	Absence d'HPV oncogène	0
11HPA3	Présence d'HPV oncogène (HPV18)	1 250
11HPA4	Présence d'HPV oncogène (HPV16 et 18)	25 000 (HPV 16) + 2 500 (HPV 18)
11HPA5	Présence d'HPV oncogène (HPV16)	50 000
Nom	Définition panel B	Nombre de cellules HPV+/ml
11HPB1*	Présence d'HPV oncogène (HPV16)	40 000
11HPB2	Présence d'HPV oncogène (HPV16)	60 000
11HPB3	Absence d'HPV oncogène	0
11HPB4**	Présence d'HPV oncogène (HPV18)	40 000
11HPB5	Présence d'HPV oncogène (HPV16)	100 000

\* Echantillon volontairement préparé à la limite du seuil de détection de la technique afin d'analyser les réponses transmises au clinicien dans cette situation

\*\* Le nombre de copie d'ADN HPV présent dans cet échantillon est environ 5 fois supérieur à celui présent dans l'échantillon 11HPB1

## Analyse qualitative des résultats

Les laboratoires devaient indiquer sur le bordereau-réponse :

- le résultat qualitatif (négatif ou positif),
- si recherché, le ou les génotypes détectés
- la conclusion rendue au clinicien

### Résultats des participants

#### Réactifs utilisés

Les réactifs utilisés sont présentés dans les tableaux II et III.

**tableau II** – Répartition des combinaisons des réactifs utilisés par les 74 laboratoires

Nom réactif n°1	Nom réactif n°2	Nom réactif n°3	Nombre utilisateurs
<b>1 réactif</b>			<b>69</b>
GREINER BIO ONE Papillocheck	/	/	13
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	/	/	13
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping	/	/	11
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	/	/	10
ABBOTT RealTime High risk HPV	/	/	7
GENOMICA Clart HPV2	/	/	4
GEN-PROBE Aptima HPV assay	/	/	2
ROCHE Linear array HPV genotyping test	/	/	2
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	/	/	1
HOLOGIC Cervista HPV HR (Third Wave)	/	/	1
ROCHE AmpliCor HPV Test	/	/	1
PCR Maison	/	/	4
<b>2 réactifs</b>			<b>4</b>
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	/	2
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	GREINER BIO ONE Papillocheck	/	1
ABBOTT RealTime High risk HPV	INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	/	1
<b>3 réactifs</b>			<b>1</b>
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1
<b>Total</b>			<b>74</b>

**tableau III** – Réactifs utilisés en fonction du principe de la technique et de sa finalité

Finalité du test	Nombre d'utilisateurs	Amplification du signal de l'hybride	Amplification de séquences virales
<b>Détection ADN HPV</b>			
ABBOTT RealTime High risk HPV	8		X
GEN-PROBE Aptima HPV assay*	2		X
HOLOGIC Cervista HPV HR (Third Wave Technolo.)	1	X	
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	17	X	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10		X
ROCHE AmpliCor HPV Test*	1		X
PCRs Maisons différentes*	4		X
<b>Géotypage séquence HPV</b>			
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1		X
GENOMICA Clart HPV2	4		X
GREINER BIO ONE Papillocheck	14		X
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15		X
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1		X
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2		X
<b>Total</b>	<b>80</b>		

\*ces réactifs ne permettent pas de distinguer les géotypes détectables par ces tests

## Résultats analytiques qualitatifs

### 1- Panel A

Lors de cette opération du Contrôle National de Qualité de détection de l'ADN HPV, 61 laboratoires ont effectué la détection de l'ADN HPV sur les 5 échantillons du panel A (11HPA1 à 11HPA5).

Les pourcentages de réponses acceptables sont respectivement de 98,4% (62/63), 100% (63/63), 96,8% (61/63), 100% (63/63) et 100% (63/63) pour ces 5 échantillons.

Les résultats des laboratoires sont regroupés dans les tableaux IV à VIII.

**tableau IV** – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA1

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Résultat positif	Résultat négatif
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	8	
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1	1	
GEN-PROBE Aptima HPV assay	2	2	
GENOMICA Clart HPV2	4	4	
GREINER BIO ONE Papillocheck	14	14	
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	1	
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15	15	
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1	1	
PCRs Maison	4	4	
ROCHE Amplicor HPV Test	1	1	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	10	
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2	1	1
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>62</b>	<b>1</b>

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

**tableau V** – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA2

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Résultat négatif	Résultat positif
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	8	
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1	1	
GEN-PROBE Aptima HPV assay	2	2	
GENOMICA Clart HPV2	4	4	
GREINER BIO ONE Papillocheck	14	14	
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	1	
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15	15	
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1	1	
PCRs Maison	4	4	
ROCHE Amplicor HPV Test	1	1	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	10	
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2	2	
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>63</b>	<b>0</b>

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

**tableau VI** – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA3

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Résultat positif	Résultat négatif
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	8	
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1	1	

GEN-PROBE Aptima HPV assay	2	2	
GENOMICA Clart HPV2	4	4	
GREINER BIO ONE Papillocheck	14	13	1
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	1	
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15	14	1
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1	1	
PCRs Maison	4	4	
ROCHE Amplicor HPV Test	1	1	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	10	
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2	2	
<b>Total</b>	63	61	2

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

**tableau VII – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA4**

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Résultat positif	Résultat négatif
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	8	
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1	1	
GEN-PROBE Aptima HPV assay	2	2	
GENOMICA Clart HPV2	4	4	
GREINER BIO ONE Papillocheck	14	14	
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	1	
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15	15	
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1	1	
PCRs Maison	4	4	
ROCHE Amplicor HPV Test	1	1	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	10	
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2	2	
<b>Total</b>	63	63	0

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

**tableau VIII – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA5**

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Résultat positif	Résultat négatif
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	8	
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	1	1	
GEN-PROBE Aptima HPV assay	2	2	
GENOMICA Clart HPV2	4	4	
GREINER BIO ONE Papillocheck	14	14	
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	1	
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	15	15	
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping	1	1	
PCRs Maison	4	4	
ROCHE Amplicor HPV Test	1	1	
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	10	
ROCHE Linear array HPV genotyping test	2	2	
<b>Total</b>	63	63	0

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

Les 3 résultats faussement négatifs ont été obtenus par 3 laboratoires différents.

## 2- Panel B

Lors de cette opération du Contrôle National de Qualité de détection de l'ADN HPV, 17 laboratoires, utilisant la trousse QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test, ont effectué la détection de l'ADN HPV sur les 5 échantillons du panel B (11HPB1 à 11HPB5).

Un laboratoire a précisé qu'il avait repris chaque échantillon dans 500 µl au lieu de 250 µl. Les résultats obtenus par ce laboratoire n'ont pas été pris en compte.

L'échantillon 11HPB1 a été volontairement préparé à la limite du seuil de détection de la technique afin d'analyser les réponses transmises au clinicien dans cette situation. Cet échantillon n'a donc pas été caractérisé en positif ou négatif.

Concernant les 4 autres échantillons, 11HPB2, 11HPB3, 11HPB4 et 11HPB5, les pourcentages de réponses acceptables sont respectivement de 100% (16/16), 100% (16/16), 75% (12/16), et 93,8% (15/16).

Les résultats des laboratoires sont regroupés dans le tableau IX.

**tableau IX** – détail des réponses des participants avec les échantillons du panel B :

Echantillons	Résultats des laboratoires			
	Résultat positif	Résultat négatif	Code conclusion erroné	Absence de code conclusion
11HPB1	8	6	1*	1**
11HPB2	16			
11HPB3		16		
11HPB4	12	2	1*	1**
11HPB5	15	1		

Les cellules bleutées correspondent aux réponses acceptables

\* : le laboratoire a indiqué "LIM" et précisé en commentaire "résultat à la limite du seuil de détection".

\*\* : le laboratoire n'a pas donné de code conclusion mais a précisé "résultat trop proche du seuil de positivité, nouveau prélèvement nécessaire".

## Résultats de l'identification des HPV

Dans le cadre de ce contrôle, la capacité des laboratoires à détecter les génotypes 16 et 18 à différentes concentrations a été étudiée. Pour cela, il était demandé aux laboratoires : « Si recherché, indiquer en clair le ou les génotypes détectés ». Les réactifs de détection, « GEN-PROBE Aptima HPV assay » et « ROCHE Amplicor HPV Test », ne permettant pas de distinguer les 14 et 13 génotypes respectivement détectables par ces tests, n'ont pas été étudiés (soit 3 résultats sur 63).

### 1- Panel A

Les résultats obtenus sur le panel A sont présentés dans les tableaux X à XIII.

**L'échantillon 11HPA1**, contenant uniquement de l'ADN HPV16, a été identifié par tous les laboratoires sauf un. Ce laboratoire, utilisant le test « ROCHE Linear array HPV genotyping test », a rendu un résultat négatif avec cet échantillon et n'a donc, de façon cohérente, pas indiqué de génotype.

**tableau X** – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA1 (HPV 16)

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Génotype rendu par le laboratoire
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	HPV 16
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1 *	1	HPV 16
GENOMICA Clart HPV2 *	4	HPV 16

GREINER BIO ONE Papillocheck *	14	HPV 16
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	HPV groupe 3
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	15	HPV 16
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping*	1	HPV 16
PCR Maison	1	HPV 16 + 66
PCR Maison	3	HPV 16
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	1	HPV 16-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-66-68
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	9	HPV 16
ROCHE Linear array HPV genotyping test *	1	/
ROCHE Linear array HPV genotyping test *	1	HPV 16
<b>Total</b>	<b>60</b>	

\* tests utilisant une technique de génotypage. Les autres techniques rendent un génotype partiel

Parmi les 60 résultats, 1 laboratoire utilisant une « PCR maison » a indiqué avoir détecté de l'HPV 66 en plus de l'HPV16 et 1 laboratoire utilisant le réactif « ROCHE Cobas 4800 HPV Test » a listé la quasi-totalité des génotypes susceptibles d'être détectés par ce réactif.

**L'échantillon 11HPA2** ne contenait pas d'ADN HPV oncogène. Tous les laboratoires ayant donné un résultat qualitatif « négatif », aucun résultat de génotypage n'a été rendu.

**L'échantillon 11HPA3** contenait uniquement de l'ADN HPV 18. Les 2 laboratoires utilisant pour l'un le réactif « GREINER BIO ONE Papillocheck » et pour l'autre le réactif « INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra » et ayant rendu un résultat négatif avec cet échantillon n'ont, de façon cohérente, pas indiqué de génotype.

**tableau XI** – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA3 (HPV18)

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Génotype rendu par le laboratoire
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	HPV 18
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1 *	1	HPV 18
GENOMICA Clart HPV2*	4	HPV 18
GREINER BIO ONE Papillocheck *	13	HPV 18
GREINER BIO ONE Papillocheck *	1	/
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	HPV groupe 3
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	1	/
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	7	HPV 18 + (39)
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	7	HPV 18
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping*	1	HPV 18
PCRs Maison	4	HPV 18
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	1	HPV 18 + 16
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	9	HPV 18
ROCHE Linear array HPV genotyping test *	2	HPV 18
<b>Total</b>	<b>60</b>	

\* tests utilisant une technique de génotypage. Les autres techniques rendent un génotype partiel

Le laboratoire utilisant le réactif « HOLOGIC Cervista HPV HR » a indiqué, avoir détecté, de façon erronée, un HPV appartenant au groupe 3 qui ne comprend pas l'HPV 18.

Parmi les 14 laboratoires utilisant le test « INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra » et ayant rendu un génotype, 7 ont indiqué avoir détecté l'HPV 18 seul et 7 ont mentionné l'HPV 39 en plus de l'HPV 18. Dans ces derniers cas, les génotypes rendus ont été les suivants : « 18, 39 » ou « 18, (39) » ou « HPV 18 possible HPV 39 » ou « HPV 18 / HPV 39 (non exclu) ».

Un laboratoire utilisant le réactif « ROCHE Cobas 4800 HPV Test » a indiqué avoir détecté de l'HPV 16 en plus de l'HPV 18.



L'échantillon 11HPA4 contenait un mélange d'ADN HPV 16 et 18.

tableau XII – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA4 (HPV 16+18)

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Génotype rendu par le laboratoire
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	HPV 16 + 18
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1 *	1	HPV 16 + 18
GENOMICA Clart HPV2 *	4	HPV 16 + 18
GREINER BIO ONE Papillocheck *	14	HPV 16 + 18
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	HPV groupe 2 et 3
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	8	HPV 16 + 18
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra *	7	HPV 16 + 18 + (39)
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping *	1	HPV 16 + 18
PCRs Maison	4	HPV 16 + 18
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	HPV 16 + 18
ROCHE Linear array HPV genotyping test *	2	HPV 16 + 18
<b>Total</b>	<b>60</b>	

\* tests utilisant une technique de génotypage. Les autres techniques rendent un génotype partiel

Tous les laboratoires ont indiqué avoir détecté l'HPV 16 et l'HPV 18. Parmi les 15 utilisateurs du réactif « INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra », 7 laboratoires ont indiqué, avoir détecté, l'HPV 39 en plus de l'HPV 16 et 18. Dans ces cas, les génotypes rendus ont été les suivants : « 16, 18,39 » ou « 16, 18, (39) ».

L'échantillon 11HPA5 contenait uniquement de l'ADN HPV 16 qui a été trouvé par tous les laboratoires.

tableau XIII – ADN HPV : détail des réponses des participants selon le réactif utilisé avec l'échantillon 11HPA5 (HPV 16)

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Génotype rendu par le laboratoire
ABBOTT RealTime High risk HPV	8	HPV 16
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1 *	1	HPV 16
GENOMICA Clart HPV2 *	4	HPV 16
GREINER BIO ONE Papillocheck *	14	HPV 16
HOLOGIC Cervista HPV HR	1	HPV groupe 3
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra*	15	HPV 16
MULTIMETRIX Multiplex HPV genotyping*	1	HPV 16
PCRs Maison	4	HPV 16
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	10	HPV 16
ROCHE Linear array HPV genotyping test *	2	HPV 16
<b>Total</b>	<b>60</b>	

\* tests utilisant une technique de génotypage. Les autres techniques rendent un génotype partiel

## 2- Panel B

Sur les 16 utilisateurs du réactif « QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test », 14 n'ont rien indiqué dans la colonne génotype et 2 ont précisé les génotypes potentiellement détectés par le réactif, à savoir « 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-69-68 » pour l'un et « 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68 » pour l'autre.

## Résultats rendus au clinicien

L'objectif de ce contrôle était aussi d'obtenir une description du libellé des résultats rendus au clinicien.

### 1- Panel A

On observe une diversité du format des résultats rendus au clinicien parmi les 63 réponses provenant des résultats obtenus avec les 15 réactifs différents. Ces réponses peuvent être regroupées pour les échantillons positifs du panel A en 5 catégories. Seules les 10 réponses de la catégorie 1 sont conformes à la nomenclature des actes de biologie médicale publiée au JO du 14 janvier 2004.

- **Catégorie 1** (10 réponses soit 16%) : les utilisateurs indiquent la présence d'ADN HPV à haut risque et ne précisent pas le type.

- **Catégorie 2** (47 réponses soit 75%) : les réponses précisent le type 16, 18 ou 16 et 18 en fonction de l'échantillon et indiquent le plus souvent au clinicien que le prélèvement contient de l'HPV à haut risque.

- **Catégorie 3** (2 réponses soit 3%) : les 2 utilisateurs ont indiqué uniquement, soit un index (par exemple 11,3), soit un nombre de copies/ml ( $1,95.10^4$  copies/ml (4,29 log) ).

- **Catégorie 4** (2 réponses soit 3%) : les utilisateurs donnent des indications sur la pratique clinique à tenir. Par exemple : « effectuer une colposcopie (et biopsie) si lésions ASCUS (HAS, 2002) » ou « colposcopie et/ou biopsie ».

- **Catégorie 5** (2 réponses soit 3%) : les laboratoires n'ont pas donné d'information.

Pour l'échantillon négatif du panel A, on note des expressions telles que :

- négatif,
- HPV non détecté parmi les géotypes recherchés,
- absence d'HPV haut risque,
- recherche HPV 16, 18 et oncogènes autres négative,
- génome non détectable,
- index = 0
- contrôle cytologique à 1 an.

Les réponses fournies au clinicien sont présentées dans le tableau XIV.

**tableau XIV – Présentation des résultats rendus au clinicien sur le panel A**

<b>11HPA1 (HPV 16)</b>	<b>11HPA2 (Négatif)</b>	<b>11HPA3 (HPV 18)</b>	<b>11HPA4 (HPV 16+18)</b>	<b>11HPA5 (HPV 16)</b>
Génotype 16 à haut risque	HPV non détecté	Génotype 18 à haut risque	Génotypes 16 et 18 à haut risque	Génotype 16 à haut risque
		Positif Génotype à haut risque 18	Positif Génotype à haut risque 16 et 18	Positif Génotype à haut risque 16
Présence d'HPV à haut risque de type 16 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16)	Aucun des 28 génotypes d'HPV recherchés n'a été détecté dans ce prélèvement, dans la limite de la qualité de l'ADN extrait et de la sensibilité de la technique. Génotypage HPV négatif	Présence d'HPV à haut risque de type 18 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 18)	Présence d'HPV à haut risque de type 16 et de type 18 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16, HPV 18)	Présence d'HPV à haut risque de type 16 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16)
Présence d'HPV à haut risque de type 16 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16)	Aucun des 28 génotypes d'HPV recherchés n'a été détecté dans ce prélèvement, dans la limite de la qualité de l'ADN extrait et de la sensibilité de la technique. Génotypage HPV négatif	Présence d'HPV à haut risque de type 18 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 18)	Présence d'HPV à haut risque de type 16 et de type 18 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16, HPV 18)	Présence d'HPV à haut risque de type 16 dans ce prélèvement. Génotypage HPV positif (HPV 16)
HPV 16 positif	négatif	Négatif	HPV positif 16 et 18	
Présence d'HPV oncogènes du groupe 3 (16/31/33/35/52/58)	Absence d'HPV oncogènes.	Présence d'HPV oncogènes du groupe 3 (16/31/33/35/52/58)	Présence d'HPV oncogènes des groupes 2 et 3 (18/39/45/59/68 et 16/31/33/35/52/58)	Présence d'HPV oncogènes du groupe 3 (16/31/33/35/52/58)
HPV 16 = positif HPV 18 = négatif Autres = positifs pour un ou tous de ces génotypes	HPV 16 = négatif HPV 18 = négatif Autres = négatifs	HPV 16 = positif HPV 18 = positif Autres = négatifs	HPV 16 = positif HPV 18 = positif Autres = négatifs	HPV 16 = positif HPV 18 = négatif Autres = négatifs
$1,95 \times 10^4$ copies/mL soit 4,29 log		$3,14 \times 10^4$ copies/mL soit 4,5 log	$7,06 \times 10^4$ copies/mL soit 4,85 log	$4,87 \times 10^4$ copies/mL soit 4,69 log
Présence de papillomavirus oncogène. Tout nouveau prélèvement positif doit être contrôlé sur un nouveau prélèvement dans (8 - 16 mois)	Absence de papillomavirus	Absence de papillomavirus	Présence de papillomavirus oncogène (infection possible avec l'HPV 39 oncogène)	Présence de papillomavirus oncogène. Tout nouveau prélèvement positif doit être contrôlé sur un nouveau prélèvement dans (8 - 16 mois)
Résultat positif. HPV à haut risque, type 16	Résultat négatif	Résultat positif. HPV à haut risque type 18. Possible présence associée de génotype 39	Résultat positif : HPV à haut risque de types 16 et 18. Possible présence associée de génotype 39	Résultat positif. HPV à haut risque, type 16
Présence de génome de papillomavirus de type 16. Absence d'inhibiteurs de la PCR.	Absence de papillomavirus. Résultat validé (absence d'inhibiteurs de la PCR)	Présence de génome de papillomavirus de types 18 et 39. Ce dernier pouvant manquer. Absence d'inhibiteur de la PCR.	Présence de génome de papillomavirus des types 16, 18 et 39. Ce dernier pouvant manquer. Absence d'inhibiteur de la PCR	Présence de génome de papillomavirus de type 16. Absence d'inhibiteur de la PCR.

Virus HPV 16	NEGATIF	Présence de virus HPV 18. Association possible avec HPV 39	Présence de virus HPV 16 + 18. Association possible avec HPV 39	Virus HPV 16
Présence d'HPV à HR oncogène : HPV 16.	HPV non détecté parmi les génotypes recherchés	Présence d'HPV à HR oncogène : HPV 18. Présence possible d'HPV 39	Présence d'HPV à HR oncogène : HPV 16 et HPV 18. Présence possible d'HPV 39	Présence d'HPV à HR oncogène : HPV 16.
Présence d'HPV haut risque		Présence d'HPV haut risque	Présence d'HPV haut risque	Présence d'HPV haut risque
HPV16	ADN d'HPV non détecté	HPV 18 La présence d'un HPV 39 ne peut pas être exclu	HPC 16 et HPV 18 La présence d'un HPV 39 ne peut pas être exclu	HPV 16
Présence d'un HPV oncogène de type 16 à confronter au contexte clinique et aux données cytologiques.	Absence d'HPV oncogène à confronter au contexte clinique et aux données cytologiques.	Présence d'un HPV oncogène de type 18 à confronter au contexte clinique et aux données cytologiques.	Présence d'un HPV oncogène de type 16 et 18 à confronter au contexte clinique et aux données cytologiques.	Présence d'un HPV oncogène de type 16 à confronter au contexte clinique et aux données cytologiques.
/	/	/	/	/
positif	négatif	Positif	positif	positif
Présence d'HPV haut risque génotype 16. les 14 génotypes d'HPV haut risque détectés sont précisés.	Absence de détection d'HPV haut risque (les 14 génotypes d'HPV haut risque détectés sont précisés)		Présence d'HPV haut risque de génotype 16 et 18. les 14 génotypes détectables sont toujours notifiés avec les résultats.	
HPV haut risque recherche positive génotype 16	HPV haut risque recherche négative	HPV haut risque recherche positive génotype 18	HPV haut risque recherche positive génotypes 16 et 18	HPV haut risque recherche positive génotype 16
Présence d'HPV haut risque HPV 16	Absence d'HPV haut risque	Présence d'HPV haut risque HPV 18	Présence d'HPV haut risque HPV 16 et 18	Présence d'HPV haut risque HPV 16
Positif, type 16	Négaif	Positif, type 18	Positif, types 16 et 18	Positif, type 16
Présence d'ADN d'HPV de type 16	Négatif	Présence d'ADN d'HPV de type 18	Présence d'ADN d'HPV de type 16 ET 18	Présence d'ADN d'HPV de type 16
recherche positive	Recherche négative	recherche positive	recherche positive	recherche positive
Recherche positive en HPV 16. Recherche ultérieure d'ARN	Recherche négative	Recherche positive en HPV 18. Recherche ultérieure d'ARN	Recherche positive en HPV 16 et 18. Recherche ultérieure d'ARN	Recherche positive en HPV 16. Recherche ultérieure d'ARN
Recherche HPV 16 positive. Recherche HPV 18 négative. Recherche HPV oncogènes autres négative	Recherche HPV 16, 18 et oncogènes autres = négative	Recherche HPV 16 négative. Recherche HPV 18 positive. Recherche HPV oncogènes autres négative	Recherche HPV 16 positive. Recherche HPV 18 positive. Recherche HPV oncogènes autres négative	Recherche HPV 16 positive. Recherche HPV 18 négative. Recherche HPV oncogènes autres négative
- Présence d'HPV à haut risque - Génotype : HPV 16	- Absence d'HPV à haut risque	- Présence d'HPV à haut risque - Génotype : HPV 18	- Présence d'HPV à haut risque - Génotype : HPV 16 et HPV 18	- Présence d'HPV à haut risque - Génotype : HPV 16
Présence d'HPV génotype 16 à haut risque	Absence de détection d'HPV	Présence d'HPV génotype 18 à haut risque	Présence d'HPV génotypes 16 et 18 à haut risque	Présence d'HPV génotype 16 à haut risque
Recherche positive HPV 16	Recherche négative	Recherche positive HPV 18	Recherche positive HPV 16 et HPV 18	Recherche positive HPV 16

Effectuer Colposcopie (et biopsie) si lésions ASCUS (HAS, 2002)	Contrôle cytologique à 1 an (HAS, 2002)	idem n°1	idem n°1	idem n°1
Présence d'HPV haut risque. Absence d'HPV bas risque	Absence HPV à haut et bas risques	Présence d'HPV haut risque. Absence d'HPV bas risque	Présence d'HPV haut risque. Absence d'HPV bas risque	Présence d'HPV haut risque. Absence d'HPV bas risque
HPV 16 positif HPV 18 négatif HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68 négatifs	HPV 16 négatif HPV 18 négatif HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68 négatifs	HPV 16 négatif HPV 18 positif HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/6 8 négatifs	HPV 16 positif HPV 18 positif HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/ 68 négatifs	HPV 16 positif HPV 18 négatif HPV 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68 négatifs
Détection des Papillomavirus oncogènes. Résultat HPV 16 = présence		Résultat HPV 18 = présence	Résultat HPV 16 = présence Résultat HPV 18 = présence	Résultat HPV 18 = présence
Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16. L'ADN de l'HPV de type 18 ou des autres types d'HPV est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	L'ADN de l'HPV de type 16, de type 18 ou des autres types d'HPV HR est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini. Echantillon négatif	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 18. L'ADN de l'HPV de type 16 ou des autres types d'HPV est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16 et type 18 L'ADN des autres types d'HPV est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16. L'ADN de l'HPV de type 18 ou des autres types d'HPV est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.
Présence d'HPV 16	Absence de détection de HPV	Présence d'HPV 18	Présence d'HPV 16 et HPV 18	Présence d'HPV 16
Détection de l'ADN d'HPV : positive	Détection de l'ADN d'HPV : négative	Détection de l'ADN d'HPV : positive	Détection de l'ADN d'HPV : positive	Détection de l'ADN d'HPV : positive
/	/	/	/	/
Recherche d'HPV type 16 positive	Recherche d'HPV négative	Recherche d'HPV type 18 positive	Recherche d'HPV type 16 et 18 positive	Recherche d'HPV type 16 positive
HPV 16 : Haut risque oncogène	Absence d'HPV	HPV 18 : Haut risque oncogène	Multiinfection à HPV 16 et HPV 18 à haut risque oncogène	HPV 16 : Haut risque oncogène
Analyse : HPV haut risque positif HPV type 16	Génome non détectable	Analyse : HPV haut risque positif HPV type 18	Analyse : HPV haut risque positif HPV type 16 et HPV 18	Analyse : HPV haut risque positif HPV type 16
Présence d'un HPV 16 considéré comme potentiellement oncogène.	Absence de détection d'HPV potentiellement oncogène.	Présence d'un HPV 18 considéré comme potentiellement oncogène.	Présence d'un HPV 16 et HPV 18 considéré comme potentiellement oncogène.	Présence d'un HPV 16 considéré comme potentiellement oncogène.
Présence d'un HPV 16 considéré comme potentiellement oncogène.	Absence de détection d'ADN d'HPV	Présence d'un HPV 18 considéré comme potentiellement oncogène.	Présence d'un HPV 16 et HPV 18 considérés comme potentiellement oncogènes.	Présence d'un HPV 16 considéré comme potentiellement oncogène.
Positif HPV 16 (HPV à haut risque oncogène)		Positif HPV 18 (HPV à haut risque oncogène)	Positif HPV 16 ET HPV 18 (HPV à haut risque oncogène)	Positif HPV 16 (HPV à haut risque oncogène)
Présence d'un HPV HR : HPV 16	Recherche d'HPV négative	Présence d'un HPV HR : HPV 18	Présence de deux HPV HR : HPV 16 et HPV 18	Présence d'un HPV HR : HPV 16
Présence d'HPV 16	Absence d'HPV à haut risque	Présence d'HPV 18	Présence d'HPV 16 et 18	Présence d'HPV 16
Présence d'ADN d'HPV haut risque génotype 16 HR	Absence d'ADN d'HPV	Présence d'ADN d'HPV haut risque génotype 18 HR	Présence d'ADN d'HPV haut risque génotype 16 HR et 18 HR	Présence d'ADN d'HPV haut risque génotype 16 HR

Présence d'ADN Génomique HPV haut risque	Absence d'ADN génomique d'HPV	Présence d'ADN Génomique HPV haut risque	IDEM	IDEM
Recherche d'ADN de papillomavirus Recherche de l'HPV 16 : positive Recherche de l'HPV 18 : négative Recherche des autres HPV à haut risque : négative (Les génotypes recherchés sont précisés dans l'intitulé de la technique)	Recherche d'HPV 16 : négative Recherche d'HPV 18 : négative Recherche des autres HPV haut risque : négative (Recherche des inhibiteurs de PCR : négative)	Recherche d'HPV 16 : négative Recherche d'HPV 18 : positive Recherche d'autres HPV haut risque : négative	Recherche d'HPV 16 : positive Recherche d'HPV 18 : positive Recherche d'autres HPV haut risque : négative	Recherche d'HPV 16 : positive Recherche d'HPV 18 : négative Recherche d'autres HPV haut risque : négative
Présence d'HPV 16 haut risque : Coloscopie et/ou biopsie	Contrôle cytologique négatif à 1 an	Présence d'HPV 18 haut risque : Coloscopie et/ou biopsie	Présence d'HPV 16 et HPV 18 haut risque : Coloscopie et/ou biopsie	Présence d'HPV 16 haut risque : Coloscopie et/ou biopsie
Présence de papillomavirus à haut risque	Absence de détection de papillomavirus à haut risque parmi les 14 génotypes recherchés	Présence de papillomavirus à haut risque	Présence de papillomavirus à haut risque	Présence de papillomavirus à haut risque
Détection : positif Index : 11,30	Détection : négatif Index : 0	Détection positif Index : 11,95	Détection positif Index : 26,49	Détection : positif Index : 10,99
Présence d'HPV de haut risque HPV 16.	Absence de détection de génome HPV. Amplification faible du contrôle interne. A contrôler	Présence d'HPV de haut risque HPV 18.	Présence d'HPV de haut risque HPV 16 et 18.	Présence d'HPV de haut risque HPV 16.
- Recherche des HPV HR positive Génotype détecté : HPV 16	- Recherche d'HPV : négative	- Recherche des HPV HR positive Génotype détecté : HPV 18	- Recherche des HPV HR positive Génotype détecté : HPV 16 et 18	- Recherche des HPV HR positive Génotype détecté : HPV 16
Présence d'ADN de papillomavirus génotype à haut risque = 16 Génotype à bas risque = aucun	Absence d'ADN de papillomavirus	Présence d'ADN de papillomavirus génotype à haut risque = 18 Génotype à bas risque = aucun	Présence d'ADN de papillomavirus génotype à haut risque = 16 et 18 Génotype à bas risque = aucun	Présence d'ADN de papillomavirus génotype à haut risque = 16 Génotype à bas risque = aucun
Mise en évidence d'un HPV 16 à haut risque oncogène.	Dépistage HPV négatif	Mise en évidence d'un HPV 18 à haut risque	Mise en évidence d'un HPV 16 et HPV 18 à haut risque	Mise en évidence d'un HPV 16 à haut risque
Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16. L'ADN de l'HPV de type 18 ou des autres types d'HPV HR est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon négatif. L'ADN HPV de type 16, de type 18 ou autres types d'HPV est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 18. L'ADN de l'HPV de type 16 ou des autres types d'HPV HR est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16 et type 18. L'ADN des autres types d'HPV HR est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.	Echantillon positif pour l'ADN HPV type 16. L'ADN de l'HPV de type 18 ou des autres types d'HPV HR est indétectable ou inférieur au seuil pré-défini.
Présence de papillomavirus oncogènes.	Absence de papillomavirus	Présence de papillomavirus oncogènes.	Présence de papillomavirus oncogènes.	Présence de papillomavirus oncogènes.
HPV Type 16	HPV négatif	HPV Type 18	HPV Type 16 et Type 18	HPV Type 16
HPV haut risque positif 16	HPV négatif	HPV haut risque positif 18	HPV haut risque positif 16 et 18	HPV haut risque positif 16
Présence d'HPV 16 de haut risque considéré comme potentiellement oncogène.	Absence d'HPV de bas risque et de haut risque.	Présence d'HPV 18 de haut risque considéré comme potentiellement oncogène.	Présence d'HPV 16 et 18 de haut risque considéré comme potentiellement oncogène.	Présence d'HPV 16 de haut risque considéré comme potentiellement oncogène.

Présence de l'ADN de Papillomavirus humain (souche 16). Risque oncogène potentiel.	Absence de détection d'ADN de Papillomavirus humain.	Présence de l'ADN de Papillomavirus humain (souche 18). Risque oncogène potentiel.	Présence de l'ADN de Papillomavirus humain (souches 16 et 18). Risque oncogène potentiel.	Présence de l'ADN de Papillomavirus humain (souche 16). Risque oncogène potentiel.
HPV 16 = positif	NEGATIF	HPV 18 = positif	HPV 16 = positif HPV 18 = positif	HPV 16 = positif
Dans le cas d'une expertise on aurait répondu, infection par HPV 16	Dans le cas d'une expertise on aurait répondu : pas d'infection par l'HPV oncogène.	Dans le cas d'une expertise on aurait répondu, infection par HPV 18	Dans le cas d'une expertise on aurait répondu, infection par HPV 16 et 18	Dans le cas d'une expertise on aurait répondu, infection par HPV 16

## 2- Panel B

Pour les échantillons positifs 11HPB2, 11HPB4 et 11HPB5 les 16 résultats interprétables obtenus avec le réactif QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test ont donné lieu à différents formats de rendu des résultats au clinicien que l'on peut regrouper en 5 catégories (les résultats d'un laboratoire n'ont pas été étudiés car il a précisé ne pas avoir suivi les consignes du protocole d'utilisation des échantillons).

Seules les réponses des catégories 1, 2 et 4 sont conformes à la nomenclature publiée au JO du 14 janvier 2004.

- **Catégorie 1** (6 réponses soit 37,5%) : les laboratoires indiquent positif et/ou que le prélèvement contient de l'HPV à haut risque
- **Catégorie 2** (6 réponses soit 37,5%) : les utilisateurs indiquent que le résultat est à la limite du seuil de détection ou proche du seuil de positivité ce qui ne permet pas de déterminer l'absence ou la présence d'HPV à haut risque dans le prélèvement. Certains précisent qu'un nouveau frottis cervico-utérin serait nécessaire pour déterminer le statut HPV ou demandent un nouveau prélèvement.
- **Catégorie 3** (1 réponse soit 6,3%) : l'utilisateur a uniquement indiqué un nombre de pg/ml : 1,31pg/ml
- **Catégorie 4** (1 réponse soit 6,3%) : l'utilisateur précise les types d'HPV recherchés (16/18/31/33/35/39/45 /51/52/56/58/9/68) et indique que la recherche est positive
- **Catégorie 5** (2 réponses soit 12,5%) : les laboratoires n'ont pas donné d'information

Pour l'échantillon négatif du panel B (11HPB3) on note des expressions telles que « test négatif », « absence d'HPV à haut risque oncogène », « absence d'ADN HPV à haut risque », « types HPV testés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-68 recherche négative », « < 1 pg/ml ».

Les réponses fournies au clinicien pour les échantillons 2 à 5 sont présentées dans les tableaux XV.



**tableau XV – Présentation des résultats rendus au clinicien sur les échantillons 11HPB2 à 11HPB5 du panel B**

<b>11HPB2 (HPV 16)</b>	<b>11HPB3 (négatif)</b>	<b>11HPB4 (HPV 18)</b>	<b>11HPB5 (HPV 16)</b>
Résultat : Présence d'un ou plusieurs des 13 génotypes d'HPV à haut risque détecté dans ce prélèvement. Conclusion : recherche de l'ADN des HPV à haut risque positive	Résultat : Aucun des 13 génotypes d'HPV à haut risque pré-cités n'a été détecté dans ce prélèvement. Conclusion : Recherche de l'ADN des HPV à haut risque négative.	Le résultat obtenu étant trop proche du seuil de positivité, il n'est pas possible de déterminer l'absence ou la présence d'HPV à haut risque dans ce prélèvement. Un nouveau frottis cervico-utérin serait nécessaire pour déterminer le statut HPV .	Résultat : Présence d'un ou plusieurs des 13 génotypes d'HPV à haut risque détecté dans ce prélèvement. Conclusion : recherche de l'ADN des HPV à haut risque positive
Test Hybrid Capture positif	Test Hybrid Capture négatif	Rédultat à la limite du seuil de détection	Test Hybrid Capture positif
test positif...	test négatif	Test positif : présence de génome de papillomavirus humain potentiellement oncogène	Ce test répond uniquement en terme de risque mais ne donne pas d'information sur l'existence ou pas d'une lésion ni sur un type de lésion.
Présence d'HPV considérés à haut risque oncogène.	Absence d'HPV considérés à haut risque oncogène.	Présence d'HPV considérés à haut risque oncogène.	Présence d'HPV considérés à haut risque oncogène.
Recherche d'ADN d'HPV à haut risque : HPV positif	Recherche d'ADN d'HPV à haut risque : HPV négatif	Recherche d'ADN d'HPV à haut risque : HPV positif	Recherche d'ADN d'HPV à haut risque : HPV positif
/	/	/	/
positif	négatif	positif à contrôler en fonction du contexte clinique et frottis	positif
/	/	/	/
3 pg/mL	< 1 pg/mL	1,31 pg/mL	10 pg/mL
Présence d'ADN HPV à haut risque à taux faible	Absence d'ADN d'HPV à haut risque	Absence d'ADN d'HPV à haut risque	Présence d'ADN d'HPV à haut risque
La recherche d'HPV oncogènes est positive	La recherche d'HPV oncogènes est négative	La recherche d'HPV oncogènes est positive	La recherche d'HPV oncogènes est positive
Types HPV testés : 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/9/68.Recherche positive	Types HPV testés : 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/9/68.Recherche négative	Types HPV testés : 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/9/68.Recherche positive	Types HPV testés : 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/9/68.Rec herche positive
Présence HPV HR	Absence HPV HR	Présence HPV HR	Présence HPV HR
Recherche d'un HPV à haut risque positive	Recherche d'un HPV HR négative	Recherche d'un HPV HR positive. Valeur proche du seuil de positivité	Recherche d'un HPV HR positive
positif. Lettre et feuille de rendu jointes en plus du bordereau.	negatif. Lettre et feuille de rendu jointes en plus du bordereau.	Positif charge virale faible. Lettre et feuille de rendu jointes en plus du bordereau.	positif.Lettre et feuille de rendu jointes en plus du bordereau.
Présence d'HPV apparenté aux HPV considérés à haut risque oncogène.	Hybridation moléculaire Hybrid Capture QIAGEN. Index <0,75. Seuil : sondes HPV 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-68. Absence de détection d'un HPV	Ce résultat a été contrôlé. Résultat très proche du seuil, compatible avec la présence d'ADN HPV à haut risque oncogène apparenté aux sondes utilisées, mais aux charges virales basses. A confirmer éventuellement sur un nouveau prélèvement.	Présence d'HPV apparenté aux HPV considérés à haut risque oncogène.

Pour l'échantillon 11HPB1, volontairement préparé à la limite du seuil de détection de la technique afin d'analyser les réponses transmises au clinicien dans cette situation, les réponses sont les suivantes :

- parmi les 8 utilisateurs ayant rendu un résultat positif : 4 ont indiqué au clinicien la présence d'ADN HPV à haut risque à taux faible ou proche du seuil de positivité ; 3 ont indiqué que la recherche d'HPV est positive ; 1 n'a rien indiqué
- parmi les 6 utilisateurs ayant rendu un résultat négatif : 4 ont conclu en l'absence d'HPV ou la négativité du résultat ; 1 a rendu une valeur à 1,18 pg/ml ; 1 n'a rien indiqué
- un laboratoire n'a pas conclu mais a précisé que l'échantillon était limite, ne permettant pas de conclure
- un laboratoire a utilisé le code « LIM » pour limite et indiqué que le résultat était à la limite du seuil de positivité

Les réponses fournies au clinicien pour l'échantillons 11HPB1 sont présentées dans les tableaux XVI.

**tableau XVI** – Présentation des résultats rendus au clinicien sur l'échantillon 11HPB1 du panel B

<b>Conclusion</b>	<b>11HPB1 (HPV 16 faible)</b>
<b>POS</b>	Présence d'ADN HPV à haut risque à taux faible
	La recherche d'HPV oncogènes est positive
	Types HPV testés : 16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/9/68. Recherche positive
	Présence HPV HR
	Recherche d'un HPV à haut risque positive. Valeur proche du seuil de positivité.
	Positif charge virale faible. Lettre et feuille de rendu jointes en plus du bordereau.
	Ce résultat a été contrôlé. Résultat très proche du seuil, compatible avec la présence d'ADN HPV à haut risque oncogène apparenté aux sondes utilisées, mais aux charges virales basses. A confirmer éventuellement sur un nouveau prélèvement.
/	
<b>NEG</b>	Test négatif. Absence de génome de papillomavirus humain à risque oncogène, selon l'état actuel des connaissances et les génotypes recherchés.
	Absence d'HPV considérés à haut risque oncogène.
	Recherche d'ADN d'HPV à haut risque : HPV négatif
	négatif
	1,18 pg/mL
/	
<b>XXA (absence de conclusion)</b>	Le résultat obtenu étant trop proche du seuil de positivité, il n'est pas possible de déterminer l'absence ou la présence d'HPV à haut risque dans ce prélèvement. Un nouveau frottis cervico-utérin serait nécessaire pour déterminer le statut HPV .
<b>XXE (code conclusion erroné)</b>	Résultat à la limite du seuil de détection

## Enquête sur la phase pré-analytique.

L'objectif de ce contrôle était, de plus, de connaître les différents milieux de transport acceptés par les laboratoires et de vérifier leur compatibilité en fonction du réactif utilisé.

Dans la pratique, la détection et le génotypage des HPV présents au niveau du col de l'utérus se fait à partir de cellules prélevées par frottis et déposées dans un flacon contenant un milieu de transport cellulaire et/ou virologique qui est adressé au laboratoire.

Lors de cette enquête, l'analyse des réponses fournies par les 74 laboratoires montre qu'un total de 19 milieux de transport a été rapporté par les laboratoires. Ils se répartissent en :

- sept milieux utilisés pour la cytologie : les milieux ThinPrep, Easyfix, Surepath, Qualicyt, Seroa, Novaprep et CMDH,
- douze milieux de virologie : STM, Abbott, Cobas, GenProbe, MART, PBS, Virocult, UTM, DMEM, BioMérieux, Cervi Sayler et plusieurs « milieux maison ».

Les laboratoires ont indiqué recevoir en moyenne 1,6 milieux : 39 laboratoires ont déclaré recevoir 1 seul milieu, 16 laboratoires 2 milieux, 7 laboratoires 3 milieux, 1 laboratoire 4 milieux et 1 laboratoire reçoit jusqu'à 7 milieux. Sur les 74 laboratoires, neuf n'ont pas précisé les milieux acceptés.

Chaque test de détection/génotypage des HPV décrit dans sa notice d'utilisation le ou les milieux de transport cellulaire avec lesquels il est validé. Un milieu de transport a également été considéré comme « validé » si les études de validation ont été publiées dans une revue scientifique.

Les milieux peuvent être classés en 2 catégories :

- Milieux pour la cytologie
  - Le liquide ThinPrep est le plus utilisé. Parmi les 65 laboratoires ayant décrit les milieux qu'ils acceptaient, 31 ont cité ce milieu. Il est utilisé avec 8 des 16 réactifs de détection/génotypage. L'un des réactifs avec lequel il est le plus utilisé est le réactif Innolipa HPV Genotyping extra (7 laboratoires), alors qu'il n'est pas validé avec ce réactif. Il est par contre validé avec tous les autres réactifs, notamment PapilloCheck (utilisé par 7 laboratoires) et HC2 (utilisé par 6 laboratoires). Les 5 réactifs avec lesquels il n'est pas utilisé sont des réactifs peu utilisés (4 réactifs Maison, Multiplex HPV genotyping, Linear Array, Amplicor et Nuclisens).
  - Le liquide EasyFix est accepté par 18 laboratoires. Il est utilisé avec 5 des 16 réactifs de détection/génotypage. Les réactifs avec lesquels il est le plus utilisé sont PapilloCheck, HC2 et RT HR HPV. Alors qu'il est validé avec les deux premiers, il ne l'est pas avec RT HR HPV.
  - Le liquide SurePath est cité par 7 laboratoires. Il est utilisé avec 6 réactifs et n'est pas validé pour l'un d'entre eux (Aptima).
  - Le liquide Qualicyt est cité également par 6 laboratoires et utilisé avec 3 réactifs. Il n'est validé que pour un seul des trois (PapilloCheck).
  - Trois autres milieux cytologiques sont acceptés par les laboratoires : Seroa, Novaprep et CMDH. Seul le milieu Novaprep est validé avec le réactif HC2.

Aucun milieu pour la cytologie n'est utilisé exclusivement avec le/les réactifs pour lesquels il est validé. Chaque milieu est utilisé avec 1 ou 2 réactifs non validés.
- Milieux virologiques
  - C'est le milieu STM de Qiagen qui est le plus utilisé. Il est cité par 21 laboratoires. Il est utilisé avec 5 réactifs de détection/génotypage et parmi eux essentiellement HC2 (12 laboratoires). Il est également utilisé avec Innolipa, Multiplex HPV genotyping, RT HR HPV et un réactif maison. Il n'est validé qu'avec HC2 et PapilloCheck.
  - Le milieu Abbott est cité par 9 laboratoires et utilisé avec 3 réactifs: RT HR HPV, Innolipa HPV Genotyping extra et 1 réactif Maison. Il n'est validé qu'avec le réactif RT HR HPV.
  - Le milieu Cobas est utilisé par 5 laboratoires qui utilisent le réactif Cobas 4800.
  - Cinq autres milieux virologiques sont acceptés : les milieux M4RT et PBS (2 laboratoires), Virocult, UTM, DMEM, BioMérieux, Cervi Saylor et un milieu Maison dans 2 laboratoires.

Un seul milieu virologique (milieu Cobas) est utilisé exclusivement avec le réactif pour lequel il est validé. Les autres liquides virologiques sont utilisés avec une à trois réactifs pour lesquels ils n'ont pas été validés.

## Conclusion

Cette opération de contrôle 11HPV1 a permis d'identifier les laboratoires de biologie médicale réalisant l'analyse de détection de l'HPV.

Les résultats analytiques qualitatifs (positif ou négatif) et l'identification des types 16 et 18 des différents échantillons proposés, obtenus par ces 74 laboratoires, sont satisfaisants.

En revanche, les résultats rendus au clinicien montre une disparité des réponses qui pour certaines ne tiennent pas compte de la nomenclature des actes de biologie pour ce paramètre (JO 14 janvier 2004). Dans notre opération de contrôle, un biais peut cependant être mis en évidence puisqu'il s'agit des réponses transmises par les laboratoires répondant à une question posée lors d'une opération de contrôle externe de la qualité et non à partir des résultats transmis en routine aux cliniciens. De plus, il était demandé aux laboratoires : « Si recherché, indiquer en clair le ou les génotypes détectés ». Ce dernier point a pu influencer les laboratoires en les incitant à indiquer clairement le génotype dans le « rendu au clinicien », ce qu'ils ne font peut-être pas en routine. Le tableau XVII précise en fonction du réactif les réponses telles qu'elles devraient être rendues au clinicien.

**tableau XVII** – Conformément à la nomenclature des actes de biologie médicale, la réponse communiquée au clinicien devrait être :

GEN-PROBE Aptima HPV assay	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33 35-39-45-51-52-56-58-59-66 68)
HOLOGIC Cervista HPV HR	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-66-68)
QIAGEN HC2 High Risk HPV DNA Test	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-68)
ROCHE Amplicor HPV Test	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-68)
INNOGENETICS Innolipa HPV Genotyping extra	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 6-11-16-18-26-31-33-35-39-40-43-44-45-51-52-53-54-56-58-59-66-68-69-70-71-73-74-82)
GENOMICA Clart HPV2	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 6-11-16-18-26-31-33-35-39-40-42-43-44-45-51-52-53-54-56-58-59-61-62-66-68-70-71-72-73-81-82-83-84-85-89)
GREINER BIO ONE Papillocheck	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 6-11-16-18-31-33-35-39-40-42-43-44/55-45-51- 52-53-56-58-59-66-68-70-73-82)
BIOMERIEUX Nuclisens EasyQ HPV v1.1	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35)
ROCHE Linear array HPV genotyping test	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 6-11-16-18-26-31-33-35-39-40-42-45-51-52-53-54-55-56-58-59-61-62-64-66-67-68-69-70-71-72-73(MM9)-81-82(MM4)-83(MM7)-84(MM8)-IS39-CP6108)
ABBOTT RealTime High risk HPV	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-66-68)
ROCHE Cobas 4800 HPV Test	Présence ou absence d'HPV oncogène ( HPV recherchés : 16-18-31-33-35-39-45-51-52-56-58-59-66-68)
PCR Maison 1	Présence ou absence d'HPV oncogène (types d'HPV recherchés à préciser)
PCR Maison 2	Présence ou absence d'HPV oncogène (types d'HPV recherchés à préciser)
PCR Maison 3	Présence ou absence d'HPV oncogène (types d'HPV recherchés à préciser)
PCR Maison 4	Présence ou absence d'HPV oncogène (types d'HPV recherchés à préciser)
PCR Maison 5	Présence ou absence d'HPV oncogène (types d'HPV recherchés à préciser)

Par ailleurs, l'enquête pré-analytique montre que 19 milieux de transport cellulaire sont acceptés par les laboratoires. Il est possible que d'autres milieux soient acceptés mais n'aient pas été cités car pour cet item, il s'agissait d'une enquête et non d'un contrôle. L'étude des milieux acceptés au regard des réactifs de détection/génotypage utilisées montre que seul le milieu Cobas est utilisé exclusivement avec sa trousse alors que tous les autres sont toujours utilisés au moins une fois avec une trousse pour laquelle ils n'ont pas été validés.

Compte tenu de l'absence d'un milieu universel validé pour tous les réactifs de détection ou génotypage, les échantillons élaborés pour le contrôle de qualité destinés aux réactifs de détection/génotypage autres que HC2 ont été fournis dans un milieu (PBS) acceptable avec les réactifs et les trousse utilisées en virologie. Les échantillons pour HC2 étaient préparés dans le milieu recommandé avec ce réactif (STM Qiagen). L'analyse des résultats de l'opération du Contrôle national de qualité ne peut donc pas évaluer l'impact de ces conditions pré-analytiques.

En revanche, dans le cadre de la mise en place de l'accréditation selon la norme ISO 15189, les laboratoires qui utilisent des milieux non validés avec leurs trousse de détection/génotypage devront présenter les études de validation qu'ils auront réalisées pour mettre en évidence la bonne conservation de l'ADN des HPV dans ces milieux. Des recommandations pour la réalisation de ces études de validation pourraient être émises par le CNR Papillomavirus. Les autorités de santé pourraient également faire des recommandations qui énumèrent les techniques acceptables dans le cadre du dépistage du cancer du col en France dans le cadre du triage des ASCUS et du test post-conisation s'il était recommandé par la HAS. Au Royaume Uni, seuls les tests de détection HC2 (avec un seuil de 2 RLU), RT HR HPV, Cobas 4800 et Aptima sont jugés acceptables dans ces indications et seulement deux liquides sont autorisés (Thinprep et Surepath) (NHS Cervical Screening Programme).