



GUIDE DE PRATIQUE POUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS

**Titre: DÉTECTION DU VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN À HAUT
RISQUE**

5 AOÛT 2013

AUTEUR(S)

Dr François Coutlée, médecin microbiologiste-infectiologue

Avec la collaboration du groupe de travail « Protocoles de l'AMMIQ » du **Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI)**, groupe de travail présidé par Dr Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue :

- Dre Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI;
- Dre Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue;
- Dr Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue;
- Dre Marie Gourdeau, médecin microbiologiste-infectiologue;
- Dre Julie Bestman-Smith, médecin microbiologiste-infectiologue;
- Madame Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI.

Avec la collaboration des membres du **Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI)** de l'Institut national de santé publique du Québec (voir annexe 1).

Approuvé par le comité du Développement professionnel continu (DPC) de l'AMMIQ.

HISTORIQUE DU DOCUMENT

Version No :1

Date : 5 août 2013

Description des modifications (si applicable)	Réviseur (signature)	Date (AAAA-MM-JJ)

TABLES DES MATIÈRES

1. CONTEXTE	6
2. BUT	6
3. OBJECTIFS	6
4. UTILISATIONS	6
4.1. GENERALITES SUR LES VPH GENITAUX	6
4.2. CIRCONSTANCES CLINIQUES OU LE TEST VPH HR N'EST PAS INDIQUE	7
4.3. LES TESTS VPH HR APPROUVES AU QUEBEC	8
4.4. PERFORMANCE DES DIFFERENTES TROUSSES VPH HR	8
5. PRINCIPES	9
5.1. PRINCIPES ANALYTIQUES DES TESTS VPH HR	9
5.2. PRINCIPES D'UTILISATION CLINIQUE DES TESTS (VOIR ANNEXES 3 ET 4)	10
6. ÉCHANTILLON(S)	10
6.1. PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON DU COL UTERIN	10
6.1.1. TECHNIQUE	10
6.2. MILIEUX DE TRANSPORT POUR LES SPECIMENS (VOIR ANNEXE 5)	11
6.2.1. LE MILIEU POUR CYTOLOGIE EN MILIEU LIQUIDE « PRESERVCYT® » DE LA COMPAGNIE HOLOGIC	11
6.2.2. LE MILIEU POUR CYTOLOGIE EN MILIEU LIQUIDE « SUREPATH® PRESERVATIVE FLUID » (SUREPATH®) DE LA COMPAGNIE BECTON DICKINSON	11
6.2.3. LE MILIEU « SAMPLE TRANSPORT MEDIUM » (STM™) DE LA COMPAGNIE QIAGEN	12
6.2.4. LA TROUSSE « ABBOTT CERVI-COLLECT SPECIMEN COLLECTION KIT » DE LA COMPAGNIE ABBOTT MOLECULAR	12
6.2.5. LE MILIEU DE PRÉLÈVEMENT « COBAS® PCR CELL COLLECTION MEDIA » DE LA COMPAGNIE ROCHE DIAGNOSTICS	12
6.3. CONSERVATION DES SPECIMENS AU LABORATOIRE	12
6.3.1. PRESERVCYT®	12
6.3.2. SUREPATH®	13
6.3.3. STM™	13
6.3.4. SPECIMEN TRANSPORT BUFFER DE LA TROUSSE ABBOTT CERVI-COLLECT SPECIMEN COLLECTION KIT	13
6.3.5. COBAS® PCR CELL COLLECTION MEDIA	13
7. SÉCURITÉ	13
8. ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL	14

9. CONTRÔLE DE QUALITÉ	14
9.1. CONTRÔLES DU TEST HC2®	14
10. PROCÉDURE	15
10.1. TRAITEMENT DES SPÉCIMENS	15
10.1.1. SPÉCIMEN SOUMIS DANS LE <i>PRESERVACYT</i> ®	15
10.1.2. TRAITEMENT DU SPÉCIMEN SOUMIS DANS <i>SUREPATH</i> ®	16
10.1.3. SPÉCIMENS SOUMIS DANS LE <i>STM</i> ™	16
10.1.4. TRAITEMENT DU SPÉCIMEN SOUMIS DANS LE <i>SPECIMEN TRANSPORT BUFFER</i> DE LA TROUSSE <i>ABBOTT CERVI-COLLECT SPECIMEN COLLECTION KIT</i>	17
10.1.5. TRAITEMENT DU SPÉCIMEN SOUMIS DANS LE <i>COBAS PCR CELL COLLECTION MEDIA</i>	17
10.2. PROCÉDURES ANALYTIQUES	17
10.2.1. PRÉCAUTIONS LORS DES PROCÉDURES	17
10.2.2. PROCÉDURES ANALYTIQUES	17
11. CALCULS	18
11.1. INTERPRÉTATION DU TEST HC2®	18
11.2. INTERPRÉTATION DU TEST <i>COBAS</i>® 4800 HPV TEST	19
11.2.1. EN UTILISANT LE « <i>HPV HIGH RISK PANEL</i> »	19
11.2.2. EN UTILISANT LE <i>HPV HIGH RISK PLUS GENOTYPING PANEL</i> :	19
11.3. INTERPRÉTATION DU TEST <i>ABBOTT REAL TIME HIGH RISK HPV TEST</i>	19
11.4. INTERPRÉTATION DU TEST <i>AMPLICOR</i>® HPV TEST	20
11.5. INTERPRÉTATION DU TEST <i>CERVISTA</i>™ HPV HR TEST	20
12. INTERFÉRENCES	20
12.1. CELLULARITÉ DU SPÉCIMEN	20
12.2. INHIBITEURS DU PROCESSUS D'AMPLIFICATION GENOMIQUE	21
12.3. POUR LE TEST HC2®	21
12.4. POUR LE TEST <i>COBAS</i>® 4800 HPV TEST	21
13. RAPPORT	21
13.1. ÉMISSION DU RAPPORT POUR TOUS LES TESTS	21
13.2. POUR HC2®	22
13.3. POUR <i>COBAS</i>® 4800 HPV TEST, <i>CERVISTA</i>™ HPV HR TEST, <i>ABBOTT REAL TIME HIGH RISK HPV TEST ET AMPLICOR</i>® HPV TEST	22
14. LIENS UTILES	22

1. CONTEXTE

Ce document est une nouvelle édition d'un document de l'AMMIQ intitulé « Protocole des ITSS : Dépistage des papillomavirus à haut risque » duquel s'est inspiré l'auteur. Le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) de l'INSPQ¹ a formé un groupe de travail composé des auteurs de cette série de documents. Ceux-ci seront dorénavant intitulés « **Guide de pratique pour les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS** ».

Ce document pourra servir de guide de pratique pour aider à la rédaction de la procédure opérationnelle normalisée par les responsables du laboratoire. Nous espérons aussi que certaines informations qui y sont présentées pourront être utiles aux cliniciens et professionnels de santé publique qui le consulteront.

2. BUT

Cette procédure décrit les procédures pour la détection des types de virus du papillome humain à haut risque (VPH HR), aussi appelés VPH oncogènes, dans des spécimens de brossage du col utérin.

3. OBJECTIFS

- Décrire les milieux de transport des échantillons du col de l'utérus acceptables pour la détection de VPH HR.
- Décrire les méthodes de laboratoire pour détecter la présence de VPH HR.
- Fournir une grille d'interprétation des résultats pour le suivi clinique des patientes dont le test VPH HR est positif ou négatif.

4. UTILISATIONS

4.1. Généralités sur les VPH génitaux

Les généralités sur les tests de détection des VPH sont fournies en détail à l'annexe 2.

Douze génotypes sont officiellement reconnus comme étant oncogènes et sont désignés VPH HR (génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) et 13 autres génotypes (dont les types 66 et 68) sont considérés comme possiblement oncogène (3). Les VPH HR causent plusieurs cancers ano-génitaux, dont le cancer du col utérin, et certains cancers oropharyngés.

¹ Le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) est un comité permanent d'experts formé avec l'accord du Ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) et de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ). Il relève de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) et est rattaché au directeur du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour les aspects de laboratoire ainsi qu'au directeur de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) pour les aspects de santé publique. Le CALI a le mandat de fournir une expertise scientifique et de formuler des recommandations et avis visant les activités de laboratoire à des fins de dépistage, de diagnostic, de suivi et de contrôle des ITSS.

Selon les modalités propres à chaque milieu, les tests de détection des VPH pour usage clinique bénéficient d'un travail collaboratif entre les laboratoires de microbiologie médicale et de pathologie médicale, et le département d'obstétrique-gynécologie.

Le dépistage du cancer du col par détection de VPH HR n'est actuellement pas en vigueur au Québec (11). L'utilisation des tests de détection des VPH HR pour cette finalité devrait s'organiser sur la base d'un programme provincial.

La détection des VPH HR dans des spécimens du col utérin est indiquée au Québec pour le triage des patientes de trente ans et plus ayant un frottis cytologique du col utérin démontrant des altérations cellulaires de signification indéterminée (ACSI) (niveau d'évidence AI), mieux connu sous l'acronyme anglais ASC-US (*atypical squamous cells of undetermined significance*) (11). Cette indication des tests VPH HR s'applique également aux femmes immunodéprimées (31).

Les patientes dont le test VPH HR est positif avec ACSI et pour qui la colposcopie n'a pas identifiée de lésion du col, peuvent être suivies avec l'aide d'une cytologie de contrôle combinée à un test VPH HR à douze mois (niveau d'évidence BII) (32). Elles sont orientées à nouveau en colposcopie si la cytologie de contrôle est anormale ou si le second test VPH HR est positif (31,32).

Les patientes qui ont été traitées pour une néoplasie intraépithéliale cervicale de grade 2 et 3 (NIC2,3) peuvent être suivies avec l'aide d'une cytologie de contrôle combinée à un test VPH HR à douze mois et vingt-quatre mois (niveau d'évidence BII) (32). Elles sont orientées à nouveau en colposcopie si la cytologie de contrôle est anormale ou si le second test VPH HR est positif (31,32). Si les tests sont négatifs pour les deux visites, ils sont répétés à trente-six mois avant d'orienter la patiente vers un dépistage cytologique usuel (32).

Le dépistage d'une maladie de haut grade résiduelle ou récidivante incluent la détection de VPH HR à 6 et douze mois (niveau d'évidence BII) ou une cytologie et/ou une colposcopie à 6 mois (niveau d'évidence BII) (32). Dans certaines circonstances particulières, les colposcopistes pourront utiliser le test du VPH pour déterminer le risque clinique de maladies pré-cancéreuses.

Répéter un traitement ou effectuer une hystérectomie sur la base d'un test VPH HR sans examen colposcopique n'est pas acceptable (niveau d'évidence EII).

4.2. Circonstances cliniques où le test VPH HR n'est pas indiqué

Le test de détection des VPH HR n'est pas utile pour :

- Les patientes qui ont une cytologie démontrant des anomalies de type ASC-H, ou suggestives de lésions squameuses intraépithéliales de bas grade ou de haut grade ;
- Prendre une décision sur la vaccination contre les VPH ;
- Le diagnostic des condylomes génitaux ;
- Le dépistage des infections transmissibles sexuellement (11,31,32) ;
- Le suivi des femmes enceintes ;
- Les femmes âgées de moins de trente ans ;
- L'évaluation d'abus sexuel.

4.3. Les tests VPH HR approuvés au Québec

Les tests approuvés par Santé Canada pour le triage des patientes avec une cytologie ACSI sont actuellement :

- *Hybrid Capture 2 High-risk HPV DNA test (HC2)*® de la compagnie *Qiagen* ;
- *Amplicor*® *HPV test* de la compagnie *Roche Diagnostics* ;
- *Cobas*® *4800 HPV test* de la compagnie *Roche Diagnostics* ;
- *Cervista*TM *HPV HR test* de la compagnie *Hologic* ;
- *Abbott RealTime High Risk HPV test* de la compagnie *Abbott Molecular*.

Le test *Cervista*TM *HPV 16/18* de la compagnie *Hologic* et le test *Linear array*® de la compagnie *Roche Diagnostics* sont également acceptés pour usage diagnostique au Canada.

4.4. Performance des différentes trousse VPH HR

Le test HC2® sert d'étalon pour évaluer les nouveaux tests de détection des VPH HR en clinique (18). Un groupe d'experts international a déterminé que pour être acceptable cliniquement en dépistage primaire du cancer du col utérin, un nouveau test de détection des VPH HR doit atteindre un niveau de sensibilité clinique pour détecter les lésions NIC2,3 supérieur à 90 % du niveau de sensibilité atteint avec le test HC2® pour les femmes de trente ans et plus (18). Cette recommandation se base sur des méta-analyses récentes qui ont démontré une sensibilité de HC2® de 97,9 % (intervalle de confiance (IC) de 95 % : 95,9 % – 99,9 %) en dépistage primaire (18). Le niveau de spécificité désiré de nouveaux tests pour la détection de NIC2,3 ne devrait pas être inférieur à 98 % de celle obtenue avec le test HC2®.

Les tests HC2®, *Cobas*® *4800 HPV test*, *Cervista*TM *HPV HR test* et *Abbott RealTime High Risk HPV test* ont des profils de sensibilité et spécificité clinique similaires (2,4,9,13,14,20,22,26-28).

Le test *Amplicor*® *HPV test* a une sensibilité clinique équivalente au HC2® mais possède une spécificité clinique plus basse que le test HC2®. La spécificité du test peut être améliorée en augmentant le seuil de détection du test, qui n'est cependant pas le seuil de détection officiel (4,10,30).

Les évaluations soumises à la *Food and Drug Administration (FDA)*, aux États-Unis, du test *Cervista*TM *HPV HR test* démontraient un taux de détection des VPH HR dans une population de femmes sans lésion du col utérin âgées de trente ans et plus qui était plus élevé comparativement aux évaluations des autres tests, ce qui pouvait suggérer une moins bonne spécificité clinique du test (15). Une évaluation subséquente réalisée avec des femmes âgées de trente ans et plus sans lésion du col utérin a cependant démontré que les taux de positivité pour VPH HR par *Cervista*TM *HPV HR test* et HC2® étaient équivalents (23).

5. PRINCIPES

5.1. Principes analytiques des tests VPH HR

Alors que la détection de VPH de bas risque est fréquente et n'est pas utile pour le dépistage des maladies pré-cancéreuses du col utérin, la détection des VPH HR est cliniquement pertinente.

Le génotypage précis des VPH n'est pas utile pour le triage des patientes avec une cytologie ACSI (voir ci bas). Il est possible que la détection des types 16 et 18 soit utilisée dans le futur dans des protocoles de triage pour sélectionner les patientes dont le test VPH HR est positif lors du dépistage primaire et qui seraient à risque plus élevé de maladie de haut grade (6).

Trois stratégies analytiques ont été développées pour détecter la présence d'une infection par le VPH (7): les tests génériques qui permettent de détecter la présence de génotypes HR comme groupe sans préciser le ou les génotypes impliqués, le génotypage extensif spécifique de type qui permet un génotypage individuel et complet, et le génotypage ciblé qui permet le génotypage individuel de quelques génotypes pertinents (en général 16 et 18) (7,21,25).

Les tests actuellement utilisés en diagnostic appartiennent aux catégories des tests génériques pour les VPH HR. Ceux-ci peuvent être combinés avec le génotypage ciblé des génotypes 16 et 18.

Les tests génériques détectent la présence d'ADN (HC2® par amplification de signal, *Amplicor® HPV test* par amplification génomique et *Cervista™ HPV HR test* par la technique « *Invader* ») ou d'ARNm (le test *APTIMA® HPV* de la compagnie *Gen-Probe* n'est pas encore approuvé au Canada pour usage diagnostique par amplification par transcription) de 13 à 14 VPH HR (génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 et parfois 66). Il existe une réaction d'hybridation croisée des réactifs de HC2® et *Amplicor® HPV test* avec d'autres génotypes HR non-inclus dans le mélange de sondes et avec certains types non-oncogéniques, ce qui contribue à diminuer la spécificité de ces tests (4,8,10).

Certains tests combinent une analyse générique avec un génotypage ciblé et rapportent la présence d'ADN de 12 génotypes HR comme groupe et la présence de VPH16 et 18 séparément. Ces tests sont le *Cobas® 4800 HPV test* et *Abbott RealTime High Risk HPV test* qui utilisent l'amplification génomique en temps réel dans une plateforme entièrement automatisée pour le traitement des spécimens, l'amplification et la détection des amplicons. Le test *Cervista™ HPV 16/18* utilise la méthode « *Invader* » et est combiné avec le test *Cervista™ HPV HR test*. Dans une étude utilisant cette stratégie sur 4 219 participantes, le risque de NIC2,3 et de cancer chez des femmes dont le test VPH 16 ou 18 est positif était de 11,4 % (95 % CI, 8,4 % - 14,8 %) comparativement à 6,1 % (95 % CI, 4,9 % - 7,2 %) pour les femmes dont le test VPH HR est positif et à 0,8 % (95 % CI, 0,3 % - 1,5 %) pour les femmes dont le test VPH HR est négatif (6).

Le *Linear array®* de *Roche Diagnostics* permet la détection individuelle de 36 génotypes génitaux. Son utilisation est restreinte pour l'instant à la recherche et la surveillance épidémiologique (4,8).

5.2. Principes d'utilisation clinique des tests (voir annexes 3 et 4)

Une patiente avec une cytologie de type ACSI et avec un test VPH HR positif sera orientée pour un examen colposcopique (niveau d'évidence AII) alors qu'une femme avec un test VPH HR négatif sera suivie à l'aide d'une cytologie à douze mois (niveau d'évidence BII) ou d'un test de détection des VPH HR à douze mois (niveau d'évidence BII). La patiente sera orientée en colposcopie si la cytologie est anormale ou si le test VPH HR est positif (31).

Lors du suivi post-traitement d'une NIC2,3, une colposcopie est indiquée en présence d'un test VPH HR de contrôle positif ou d'une cytologie de contrôle avec des anomalies de type ACSI ou plus (niveau d'évidence BII). Si deux tests VPH HR ou deux cytologies consécutives sont négatifs, la patiente est orientée en dépistage de routine pour au moins vingt ans (32) (niveau d'évidence AI).

Les patientes qui ont un test VPH HR positif et qui ont une cytologie avec ACSI pour qui une première colposcopie n'a pas identifié de lésion du col, peuvent être suivies avec l'aide d'une cytologie de contrôle à 6 et douze mois (niveau d'évidence BII) ou par un test VPH HR à douze mois (niveau d'évidence BII). Elles sont orientées à nouveau en colposcopie si la cytologie de contrôle est anormale ou si le test VPH HR est positif (31).

6. ÉCHANTILLON(S)

6.1. Prélèvement de l'échantillon du col utérin

L'échantillon approprié pour la détection de VPH HR est obtenu par un brossage de l'endocol et de l'exocol à l'aide d'une cytobrosse du type « balai » (*broom-type device*) qui recueille des cellules de l'endocol et de l'exocol. L'utilisation d'une cytobrosse augmente la sensibilité de la détection des VPH HR comparativement à l'utilisation d'un écouvillon (8). Le clinicien peut également combiner le prélèvement obtenu avec une cytobrosse et une spatule si la cytobrosse utilisée ne recueille que les cellules de l'endocol.

L'utilisation d'un auto-prélèvement avec un écouvillon pour la détection de VPH HR est prometteuse pour le dépistage des femmes qui ne fréquentent pas le système de santé, mais n'est pas encore appliquée au Québec (33).

6.1.1. Technique

- Ne jamais utiliser de cytobrosse pour effectuer un prélèvement du col utérin chez une femme enceinte.
- Prélever les cellules du col utérin avec la cytobrosse avant d'appliquer de l'iode ou de l'acide acétique.
- Éliminer l'excès de glaire au niveau du col utérin avec un écouvillon de dacron avant de procéder au prélèvement pour les VPH HR.
- Insérer la cytobrosse de 1 à 1,5 cm dans l'orifice du col utérin jusqu'à ce que les plus grands poils de la cytobrosse appuient sur le col utérin.
- Effectuer trois rotations complètes dans le sens des aiguilles d'une montre.
- Ne pas enfoncer complètement la cytobrosse dans l'endocol.
- Retirer la cytobrosse et l'agiter dans le tube avec milieu de transport.

Des concentrations élevées de crème antifongique, de crème de cortisone, de gelée contraceptive, de crème contre la démangeaison ou de liquide d'une douche vaginale récente peuvent interférer avec la détection de VPH HR et générer des résultats faussement négatifs.

Seul le test HC2® ne mesure pas la cellularité du spécimen. Les échantillons hypocellulaires peuvent être faussement négatifs pour VPH HR.

Certains spécimens peuvent contenir du sang ou d'autres substances qui peuvent masquer le changement de couleur lors de l'addition du réactif de dénaturation et des sondes lors du test HC2®. Ce phénomène n'interférera pas avec les valeurs finales obtenues pour la réaction et lues sur le luminomètre.

Certains spécimens peuvent contenir des inhibiteurs des polymérases de l'ADN. Les tests de détection de VPH HR qui utilisent une méthode d'amplification génomique ont incorporé un contrôle cellulaire permettant l'amplification d'un gène humain.

- Un résultat positif pour la détection de séquences humaines démontre que la présence d'inhibiteurs n'interfère pas avec la détection de VPH HR.
- Un résultat négatif pour la détection de séquences humaines suggère la présence d'inhibiteurs ou une faible quantité de cellules.

Une quantité de sang supérieure à 1,5 % dans la solution *PreservCyt*® peut générer des résultats faussement négatifs avec le *Cobas*® 4800 HPV test. De par ce fait, il est suggérer de ne pas traiter les échantillons présentant une couleur marron foncé ou contenant grossièrement du sang lorsque contenu dans du *PreservCyt*®.

6.2. Milieux de Transport pour les spécimens (voir annexe 5)

6.2.1. Le milieu pour cytologie en milieu liquide « *PreservCyt*® » de la compagnie *Hologic*

- Milieu qui peut être utilisé pour tous les tests mentionnés dans ce protocole.
- Après le prélèvement, agiter la cytobrosse dans ce milieu, jeter la cytobrosse et fermer le vial jusqu'à ce que la ligne noire du côté du couvercle soit à gauche de la ligne noire du couvercle.
- L'échantillon peut être transporté au laboratoire à une température de 2°C - 30°C.
- Le *PreservCyt*® sans échantillon peut être conservé à la température de la pièce.

6.2.2. Le milieu pour cytologie en milieu liquide « *SurePath*® *Preservative Fluid* » (*SurePath*®) de la compagnie *Becton Dickinson*

- Ce milieu est inclus avec une cytobrosse dans le « *SurePath*™ *special collection kit* ».
- Ce milieu peut être utilisé pour HC2®, *Amplicor*® HPV test, *Cobas*® 4800 HPV test et *Abbott RealTime High Risk HPV test* (en voie d'acceptation par Santé Canada).
- Après le prélèvement, agiter la cytobrosse dans le milieu, briser le manche de la cytobrosse pour déposer la tête de la cytobrosse dans le vial, et fermer le vial.
- Pour le test *Amplicor*® HPV test, le spécimen doit être entreposé à une température de 2°C - 8°C dans les 8 heures suivant le prélèvement. Si ce délai de 8 heures est

dépassé, le spécimen doit être transporté au laboratoire à une température de 2°C - 8°C.

- Pour les tests HC2®, *Abbott RealTime High Risk HPV test* et *Cobas® 4800 HPV test*, le spécimen peut être transporté au laboratoire à une température entre 2°C et 30°C.
- Le milieu *SurePath®* sans spécimen peut être conservé à la température de la pièce.

6.2.3. Le milieu « *Sample Transport Medium* » (STM™) de la compagnie *Qiagen*

- Ce milieu est fourni dans un tube vissé dans la trousse de prélèvement avec une cytobrosse (*HC2 DNA Collection Device™*).
- Le STM™ est utilisé pour HC2®.
- La cytobrosse utilisée pour obtenir l'échantillon doit être envoyée au laboratoire dans le tube de STM™ en cassant le manche au niveau de la ligne sur la cytobrosse.
- Le spécimen peut être acheminé au laboratoire à la température de la pièce.
- La trousse de prélèvement et le STM™ peuvent être conservés à la température de la pièce.

6.2.4. La trousse « *Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit* » de la compagnie *Abbott Molecular*

- Cette trousse peut être utilisée avec le test *Abbott RealTime High Risk HPV test*.
- Elle contient une cytobrosse ainsi qu'un vial vissé contenant 2,5 ml de « *Specimen Transport Buffer* ».
- La cytobrosse n'est pas conservée dans le vial du tampon de transport après le prélèvement.
- Le spécimen peut être transporté au laboratoire à une température entre 2°C et 30°C.
- L'ensemble de prélèvement peut être conservé à la température de la pièce.

6.2.5. Le milieu de prélèvement « *Cobas® PCR Cell Collection Media* » de la compagnie *Roche Diagnostics*

- Ce milieu est utilisé avec la trousse *Cobas® 4800 HPV test*.
- Les échantillons peuvent être transportés au laboratoire à une température entre 2°C et 30°C.

6.3. Conservation des spécimens au laboratoire

6.3.1. *PreservCyt®*

- Les spécimens peuvent être conservés jusqu'à douze semaines (HC2®), dix-huit semaines (*Cervista™ HPV HR test*) ou 6 mois (*Cobas® 4800 HPV test*) à une température entre 2°C et 30°C.

- Pour le test *Amplicor® HPV test*, les spécimens peuvent être conservés jusqu'à 3 semaines à la température de la pièce ou jusqu'à 8 semaines à une température entre 2°C et 8°C.
- Pour le test *Abbott RealTime High Risk HPV test*, les spécimens peuvent être conservés jusqu'à 4 mois à une température entre 15°C et 30°C, ou jusqu'à 6 mois à une température entre 2°C et 8°C.
- Ces spécimens ne peuvent pas être congelés.

6.3.2. **SurePath®**

- Pour le test *HC2®*, la durée de conservation du spécimen n'a pas été établie. Il est donc prudent d'appliquer les normes utilisées pour le test *Amplicor® HPV test*.
- Pour le test *Amplicor® HPV test*, les spécimens peuvent être transportés et conservés jusqu'à 2 semaines à une température entre 2°C et 8°C.
- Pour le *Cobas® 4800 HPV test*, les spécimens peuvent être conservés jusqu'à 6 mois à une température entre 2°C et 8°C, ou pendant 14 jours à une température entre 15°C et 30°C.
- Pour *Abbott RealTime High Risk HPV test*, les spécimens peuvent être transportés et conservés jusqu'à 8 semaines à une température entre 15°C et 30°C et jusqu'à 6 mois entre 2°C et 8°C.

6.3.3. **STM™**

- Les spécimens transportés dans le *STM™* peuvent être conservés pour quatorze jours à la température de la pièce.
- Après ce délai, les spécimens peuvent être conservés 1 semaine additionnelle à 4°C.
- Si ce dernier délai est dépassé, conserver les spécimens à -20°C pour 3 mois.

6.3.4. **Specimen Transport Buffer de la trousse Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit**

- Les spécimens peuvent être conservés entre 2°C et 30°C pendant 14 jours.
- Après ce délai, les spécimens peuvent être conservés à une température inférieure à -10°C pour au plus quatre-vingt-dix jours.
- Les spécimens ne doivent pas subir plus de 4 cycles de congélation/décongélation.

6.3.5. **Cobas® PCR Cell Collection Media**

- Les spécimens peuvent être conservés jusqu'à 6 mois entre 2°C à 30°C.

7. SÉCURITÉ

Le VPH pourrait se transmettre au personnel de laboratoire par exposition des muqueuses ou de lésions de la peau à des gouttelettes de spécimen infecté ou par inoculation parentérale accidentelle.

Les spécimens génitaux contenus dans les milieux de transport ou des milieux cytologiques liquides doivent être manipulés avec des gants et avec soin, car ils peuvent contenir non seulement du VPH mais aussi d'autres agents infectieux génitaux.

Les consignes de biosécurité de confinement de niveau 2 en vigueur dans l'établissement doivent être respectées. Une blouse de laboratoire et des gants doivent être portés lors de la manipulation des échantillons. Ne pas pipeter à la bouche et minimiser les aérosols. Éliminer les déchets biologiques selon les consignes et protocoles en vigueur dans votre institution. Les procédures détaillées sont présentées sur la Fiche Technique Santé-Sécurité (MSDS) disponible sur le site internet: http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/index_f.html#h.

Les consignes de biosécurité de confinement de niveau 2 en vigueur dans l'établissement en cas de déversement doivent être respectées lorsqu'un déversement a lieu.

Certains réactifs de dénaturation ou d'extraction des acides peuvent être corrosifs.

Certaines trousse contiennent des réactifs avec de l'isopropanol qui est facilement inflammable.

Certains tampons de lavage et réactifs peuvent contenir de l'azide sodique qui peut être toxique au contact.

Les liquides de préservation cytologique contiennent de l'éthanol dénaturé qui peut être fatal si ingéré.

8. ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL

L'équipement et le matériel nécessaire mais non-inclus avec l'appareillage fourni ou vendu par la compagnie spécifiquement pour le test varient selon le test utilisé.

Se référer au manuel d'instruction du fabricant pour s'assurer de la disponibilité des instruments et du matériel nécessaires pour réaliser la technique, plus particulièrement du matériel non inclus dans les trousse et des instruments non fournis par la compagnie.

9. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Vérifier les dates d'expiration des réactifs et ne pas utiliser les réactifs si cette date est dépassée.

Chaque trousse comporte des contrôles positifs et négatifs qui doivent être traités et analysés selon les recommandations du fabricant.

L'inclusion de contrôles négatifs pour les techniques d'amplification génomique permet également de dépister un problème de contamination par amplicons contaminants.

9.1. Contrôles du test HC2®

Le test HC2® a une série de contrôles et de calculs plus élaborés que les autres techniques.

Pour être acceptable, une technique avec HC2® doit obtenir :

- **Des contrôles positifs (PC)** en triplicata avec un coefficient de variation (%CV) $\leq 15\%$. Si le %CV est entre 15 % et 25 %, recalculer le %CV en éliminant la valeur la plus déviante. Si le %CV reste $> 15\%$, le test n'est pas valide. Si le %CV est $\leq 15\%$, le test est valide. Il faut alors recalculer le seuil de détection (*cut-off*) avec les deux contrôles positifs restants et recalculer les ratios pour chaque spécimen.
- **Des contrôles négatifs (NC)** en triplicata avec un %CV $\leq 25\%$. Si le %CV est $> 25\%$, recalculer le %CV en éliminant la valeur la plus déviante. Si le %CV reste

> 25 %, le test n'est pas valide. Si le %CV est \leq 25 %, le test est valide. Sinon il faut recommencer la technique au complet.

- La moyenne des NC doit être > 10 et \leq 250 RLU (*relative light units*) sinon le test n'est pas valide et doit être repris.
- Le ratio de la moyenne des PC/NC doit être \geq 2,0 et < 15,0, sinon le test n'est pas valide et doit être repris.
- Un contrôle de qualité VPH bas risque (QC1-LR) dont le ratio doit se situer entre 0,001 et 0,999.
- Un contrôle de qualité VPH haut risque (QC1-HR) dont le ratio doit se situer entre 2,0 et 8,0.

10. PROCÉDURE

10.1. Traitement des spécimens

10.1.1. Spécimen soumis dans le *PreservCyt*®

10.1.1.1. Pour le test *HC2*®

- Le traitement de 4 ml de *PreservCyt*® permet de réaliser 2 tests de *HC2*® par échantillon. Le volume minimal à traiter de milieu de cytologie liquide est de 4 ml par échantillon.
- Agiter vigoureusement le vial contenant le liquide de cytologie pour bien resuspendre les cellules.
- Utiliser la procédure décrite dans la trousse du « *Sample Conversion Kit*TM » de *Qiagen* pour traiter l'échantillon.
- Un culot de cellules devrait être visible après centrifugation d'un spécimen recueilli dans du *PreservCyt*®. L'absence de culot pourrait entraîner un spécimen faussement négatif. Ceci devrait être mentionné dans le rapport.

10.1.1.2. Pour le test *Cervista*TM HPV HR test

- 2 ml de spécimen sont utilisés pour cette technique.
- L'ADN du spécimen contenu dans le milieu de cytologie liquide devrait être extrait avec la trousse « *Genfind DNA Extraction kit* » selon les procédures du manufacturier *Hologic*.

10.1.1.3. Pour le test *Amplior*® HPV test

- L'extraction des acides nucléiques du spécimen est effectuée avec la trousse « *AmpliLute Liquid Media Extraction Kit* » (*Roche Diagnostics*) sur la plateforme « *Qiagen MDx platform* » (*Qiagen*) en suivant les recommandations du manufacturier.
- 250 μ l du spécimen sont traités par cette procédure.

- Un culot de cellules devrait être visible après centrifugation d'un spécimen recueilli dans du *PreservCyt*®. L'absence de culot pourrait entraîner un spécimen faussement négatif. Ceci devrait être mentionné dans le rapport.

10.1.1.4. *Pour le test Cobas® 4800 HPV test*

- Le spécimen est traité et analysé selon les procédures décrites par le fabricant *Roche Diagnostics* sur l'appareil automatisé *Cobas*® 4800.
- Un volume minimal de 1 ml (400 µl seront utilisés par l'appareil) et maximal de 4 ml seront extraits pour cette technique en utilisant un tube secondaire de 13 ml, ou de 3 ml si le vial original de prélèvement est utilisé.

10.1.1.5. *Pour le test Abbott RealTime High Risk HPV test*

- Le spécimen est traité et analysé selon les procédures décrites par le fabricant *Abbott Molecular* sur l'appareil automatisé *m2000*.
- S'assurer d'utiliser un minimum de 400-700 µl de spécimen selon le tube de transfert utilisé pour que 400 µl d'échantillon soit transféré dans l'appareil, selon les recommandations du fabricant.

10.1.2. Traitement du spécimen soumis dans *SurePath*®

- Un culot de cellules devrait être visible après centrifugation d'un spécimen recueilli dans *SurePath*®. L'absence de culot pourrait entraîner un spécimen faussement négatif. Ceci devrait être mentionné dans le rapport.

10.1.2.1. *Pour le test HC2®*

- La procédure décrite pour le *PreservCyt*® est utilisée avec 2-4 ml de liquide cytologique *SurePath*® en utilisant le protocole décrit avec le « Sample Conversion Buffer » en 10.1.1.1.

10.1.2.2. *Pour le test Abbott RealTime High Risk HPV test*

- Le spécimen est traité et analysé selon les procédures décrites par le fabricant *Abbott Molecular* sur l'appareil automatisé *m2000*.
- S'assurer d'utiliser un minimum de 400-700 µl de spécimen selon le tube de transfert utilisé pour que 400 µl d'échantillon soit transféré dans l'appareil, selon les recommandations du fabricant.

10.1.3. Spécimens soumis dans le *STM*™

- Les spécimens soumis dans le *STM*™ sont traités selon les recommandations du fabricant *Qiagen*. Préparer le contrôle négatif (NC) et le contrôle positif (PC) concomitamment qui seront évalués en triple pour chaque technique.
- Lors de la procédure, tous les tubes doivent virer au violet après la dénaturation initiale.
- Les échantillons traités et dénaturés peuvent être analysés immédiatement, gardés à 4°C pour une nuit ou conservés à -20°C pendant 3 mois.

10.1.4. Traitement du spécimen soumis dans le *Specimen Transport Buffer* de la trousse *Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit*

- Pour le test *Abbott RealTime High Risk HPV test*, le spécimen est traité et analysé selon les procédures décrites par le manufacturier *Abbott Molecular* sur l'appareil automatisé *m2000*.

10.1.5. Traitement du spécimen soumis dans le *Cobas PCR Cell Collection media*

- Le spécimen est traité et analysé selon les procédures décrites par le manufacturier *Roche Diagnostics* sur l'appareil *Cobas® 4800*.
- Un volume minimal de 1 ml (400 µl seront utilisés par l'appareil) et maximal de 4 ml seront extraits pour cette technique en utilisant un tube secondaire de 13 ml, ou de 3 ml si le vial original de prélèvement est utilisé.

10.2. Procédures analytiques

10.2.1. Précautions lors des procédures

- Les acides nucléiques peuvent être digérés par des nucléases qui sont présentes sur les surfaces inertes de l'environnement ou sur la peau. Les surfaces de travail doivent donc être propres et le port de gant sans poudre est obligatoire.
- Certains réactifs sont sensibles à la lumière. Prière de consulter les mises en garde du test utilisé pour s'assurer de protéger de tels réactifs.
- Lorsqu'une pipette avec multiples canaux est utilisée, il est préférable d'utiliser la méthode de « pipetage inversé » ou « *reverse pipetting technique* ». Se référer au manuel d'utilisation de la pipette multi-canal pour utiliser cette technique.
- Les méthodes qui utilisent l'amplification génomique nécessitent des installations qui permettent d'éviter la contamination pour éviter de générer des résultats faussement positifs. Le respect des trois zones de travail est important pour ce type de test (*Amplicor® HPV test*, *Cervista™ HPV HR test*, version manuelle d'*Abbott RealTime High Risk HPV test*) alors qu'il n'est pas requis pour *HC2®*.
- Les plateformes entièrement automatisées (*Cobas® 4800 HPV test* et *Abbott RealTime High Risk HPV test* sur *m2000*) ne nécessitent pas l'utilisation des 3 zones de PCR requises pour les méthodes qui ne sont pas entièrement automatisées.
- Les 2 tests produits par *Roche Diagnostics* et le test *Abbott RealTime High Risk HPV test* utilisent les réactifs *AmpErase* et le *dUTP* dans le mélange réactionnel. Ce réactif détruit par digestion enzymatique les amplicons contaminants générés par les réactions d'amplification antérieures. Ce réactif permet donc de réduire le problème de contamination.

10.2.2. Procédures analytiques

- Les procédures analytiques des différents tests devront être complétées en respectant les recommandations du manufacturier.

- Le test HC2® peut être effectué avec la plateforme à haut débit « *Rapid Capture System* ».
- Le test *Cervista™ HPV HR test* peut être effectué manuellement ou sur une plateforme automatisée *Cervista High Throughput Automation System*. Le principe du *Cervista™ HPV 16/18* est identique au test *Cervista™ HPV HR test*.
- Le test *Abbott RealTime High Risk HPV test* peut être effectué :
 - 1) sur une base manuelle et analysé sur l'appareil *m2000rt*,
 - 2) sur une base semi-automatisée en utilisant les appareils *m24sp* pour le traitement des échantillons et *m2000rt* pour la détection, ou
 - 3) sur une base entièrement automatisée avec l'appareil *m2000*.
- Le test *Cobas® 4800 HPV test* est effectué sur une base entièrement automatisée.

11. CALCULS

11.1. Interprétation du test HC2®

La valeur seuil (correspondant à la moyenne des contrôles positifs) sera déterminée par le programme informatique du test. La réactivité des échantillons est exprimée sous forme de ratio entre l'émission de lumière par l'échantillon comparativement au contrôle positif de 1 pg/ml qui correspond au seuil de positivité. Tout spécimen avec un ratio supérieur à 1 est considéré positif.

	Ratio RLU/Valeur seuil	Interprétation
Échantillons contenus dans le STM™	≥ 1	positifs
	< 1	négatifs
Échantillons contenus dans le PreservCyt® ou SurePath®	≥ 2,5	positifs
	< 1	négatifs
	Entre 1 - < 2,5	doivent être confirmés

L'interprétation des résultats pour les spécimens à confirmer utilise le ratio du second test :

- Si ce ratio est égal ou supérieur à 1, le spécimen est positif.
- Si ce ratio est inférieur à 1, le spécimen doit être analysé une troisième fois. Le résultat du troisième test est définitif (≥ 1 est positif, < 1 est négatif).

Conserver les spécimens traités à confirmer à - 20°C entre les procédures.

11.2. Interprétation du test **Cobas® 4800 HPV test**

L'appareil effectue les validations d'analyses et fournit les résultats d'emblée pour le test avec deux options d'analyse. Un ensemble de tests effectués en même temps peuvent comporter des résultats de spécimens valides et invalides.

11.2.1. En utilisant le « **HPV High Risk Panel** »

- « HR HPV POS » signifie que le spécimen est positif pour un des 14 VPH HR incluant les types 16 et 18.
- « HR HPV NEG » signifie que le spécimen est négatif pour un des 14 VPH HR incluant les types 16 et 18.
- Le message « *Invalid* » signifie que le spécimen doit être réanalysé pour au plus 2 fois. Si le message persiste, un nouveau spécimen doit être obtenu.
- Le message « *Failed* » signifie qu'il faut réviser les messages d'erreur de la technique qui a échoué et recommencer la technique après correction.

11.2.2. En utilisant le **HPV High Risk plus genotyping panel** :

- Les résultats apparaissent séparément pour VPH16, VPH18 et les 12 autres génotypes HR (*other HR HPV*).
- Les résultats sont positifs (POS) ou négatifs (NEG).
- Le message « *Invalid* » signifie que le spécimen doit être réanalysé. Si le message persiste, un nouveau spécimen doit être obtenu. Les résultats invalides peuvent ne s'appliquer qu'à un des résultats (VPH16 ou VPH18 ou autres HR VPH).
- Le message « *Failed* » signifie qu'il faut réviser les messages d'erreur de la technique qui a échoué et recommencer la technique après correction.

11.3. Interprétation du test **Abbott RealTime High Risk HPV test**

L'appareil fournit l'interprétation des résultats en fonction de la présence de réaction pour VPH HR et de l'amplification du contrôle cellulaire.

L'intensité du signal généré pour le VPH16, le VPH18 et les autres VPH HR est indiquée dans le rapport entre parenthèse dans la colonne « Résultats ».

L'interprétation « *HR HPV detected* » signifie qu'un VPH HR est détecté. Un message affiché dans la colonne « Résultats » indique s'il s'agit du VPH16, VPH18 ou d'un autre génotype de VPH HR (*other HR HPV*).

L'interprétation « *Not detected* » signifie qu'aucun VPH HR n'a été détecté.

Si le contrôle cellulaire ne génère pas une réaction dans les limites prévues par le test et que le test est négatif pour un VPH HR, un code d'erreur sera généré.

L'échantillon pour lequel un code d'erreur a été généré doit être réévalué.

11.4. Interprétation du test *Amplicor*[®] HPV test

Les échantillons avec un résultat :

- $\geq 0,2$ sont positifs;
- $< 0,2$ sont négatifs si le résultat de β -globine est $\geq 0,2$;
- $< 0,2$ sont invalides si le résultat de β -globine est $< 0,2$.

11.5. Interprétation du test *Cervista*TM HPV HR test

Selon les ratios mesurés par l'appareil pour chaque spécimen tel que détaillé au prochain paragraphe, un spécimen pourra être « Positif » pour un VPH HR, « Négatif » pour un VPH HR, « Indéterminé » ou « Invalide ».

L'appareil calcule pour chaque spécimen une valeur de réactivité avec chacun des 3 mélanges réactionnels pour VPH HR en fonction du bruit de fond d'un contrôle négatif sans cible. Le ratio entre le résultat le plus élevé et le résultat le plus faible des 3 mélanges réactionnels corrigés pour le bruit de fond est alors calculé. Si ce ratio est supérieur à 1,525, le spécimen est « Positif » pour un VPH HR. Un autre algorithme de calcul est appliqué si ce ratio n'est pas atteint mais que les 3 mélanges réactionnels sont réactifs et ont tous un ratio individuel supérieur à 1,93. Le test est alors « Positif » pour un VPH HR.

L'appareil calcule un coefficient de variation à partir des 3 réactions du contrôle cellulaire des 3 mélanges réactionnels. Si celui-ci est supérieur à 25 %, le résultat est « Invalide ».

L'appareil calcule le ratio entre le signal de chacune des réactions du contrôle cellulaire des 3 mélanges réactionnels et le bruit de fonds. Si ce ratio est inférieur à 0,7 pour chacune des réactions, le résultat est « Indéterminé ».

L'appareil calcule la moyenne des ratios entre le signal des contrôles cellulaires et le bruit de fonds. Si cette moyenne est inférieure à 1,5 pour un spécimen négatif pour VPH HR, le test est « Indéterminé ».

Un spécimen est « Indéterminé » parce que le spécimen contient une faible quantité d'ADN, parce que le mélange réactionnel et le spécimen ont été mal mélangés ou par une erreur de pipetage.

12. INTERFÉRENCES

Des concentrations élevées de crème antifongique, de crème d'oestrogène, de gelée contraceptive, de crème d'antibiotique, lubrifiant, hydratants vaginaux ou de liquide d'une douche vaginale récente peuvent interférer avec la détection de VPH HR et générer des résultats faussement négatifs.

12.1. Cellularité du spécimen

Seul le test HC2[®] ne mesure pas la cellularité du spécimen.

Les autres tests détectent la présence de l'ADN d'un gène humain pour détecter la présence de cellules dans l'échantillon.

Les échantillons hypocellulaires peuvent être faussement négatifs pour VPH HR.

12.2. Inhibiteurs du processus d'amplification génomique

Certains spécimens peuvent contenir des inhibiteurs des polymérases de l'ADN.

Les tests de détection de VPH HR qui utilisent une méthode d'amplification génomique ont incorporé un contrôle cellulaire permettant l'amplification d'un gène humain.

- Un résultat positif pour la détection de séquences humaines démontre que la présence d'inhibiteurs n'interfère pas avec la détection de VPH HR.
- Un résultat négatif pour la détection de séquences humaines suggère la présence d'inhibiteurs ou une faible quantité de cellules.

12.3. Pour le test HC2®

Certains spécimens peuvent contenir du sang ou d'autres substances qui peuvent masquer le changement de couleur lors de l'addition du réactif de dénaturation et des sondes. Ce phénomène n'interférera pas avec les valeurs finales obtenues pour la réaction et lues sur le luminomètre.

12.4. Pour le test Cobas® 4800 HPV test

Une quantité de sang supérieur à 1,5 % dans la solution *PreservCyt*® peut générer des résultats faussement négatifs avec le *Cobas*® 4800 HPV test.

De par ce fait, il est suggérer de ne pas traiter les échantillons présentant une couleur marron foncé ou contenant grossièrement du sang lorsque contenu dans du *PreservCyt*®.

13. RAPPORT

13.1. Émission du rapport pour tous les tests

Résultat négatif : Détection d'ADN du virus du papillome humain à haut risque (types à énumérer selon la procédure utilisée) par la technique choisie.

Absence de virus du virus du papillome humain à haut risque.

Commentaire : Un suivi cytologique habituel peut être effectué pour les femmes avec ACSI en l'absence de virus du papillome humain.

Si la trousse de prélèvement *SurePath*® ou la trousse de prélèvement STM™ (*HC2 DNA Collection Device*) est utilisée, Il est préférable d'écrire un commentaire si la cytobrosse n'est pas envoyée dans le milieu de transport : « la cytobrosse était absente du milieu de transport, ce qui peut diminuer la sensibilité du test pour détecter les VPH ».

Résultat positif : Détection d'ADN du virus du papillome humain à haut risque (types à énumérer selon la procédure utilisée) par la technique choisie.

Présence de virus du papillome humain à haut risque.

Commentaire : Une colposcopie doit être considérée pour les femmes avec ACSI à la cytologie et infectée par un virus du papillome humain à haut risque.

Certains tests permettent la détection sélective des VPH HR de types 16 et 18. Ces résultats permettent d'orienter la patiente dont le résultat d'un de ces types est positif, dans la situation clinique d'une cytologie normale en dépistage primaire, directement en coloscopie (24). Par contre ils n'ont pas d'utilité pour le triage des patientes avec une cytologie ACSI et ne devraient pas être individualisés sur le rapport (11).

13.2. Pour HC2®

Si le spécimen a été recueilli dans du *PreservCyt*® ou *SurePath*®, et qu'un culot de cellules n'était pas visible après centrifugation, il faut mentionner que la mauvaise qualité de l'échantillon pourrait entraîner un résultat faussement négatif et qu'un nouvel échantillon devrait être soumis.

Si le résultat du spécimen contenu dans du *PreservCyt*® donne un RLU de 1 à < 2,5, un commentaire peut être émis en attendant les résultats finaux.

Résultat à confirmer: Détection d'ADN du virus du papillome humain à haut risque (types à énumérer selon la procédure utilisée) par la technique utilisée.

Analyse en cours. Ce commentaire sera effacé lorsque les résultats du spécimen auront été confirmés après une nouvelle analyse.

13.3. Pour *Cobas*® 4800 HPV test, *Cervista*™ HPV HR test, *Abbott RealTime High Risk HPV test* et *Amplacor*® HPV test

Lorsque les résultats sont invalides, le rapport devrait mentionner

Résultat invalide : Détection d'ADN du virus du papillome humain à haut risque (types à énumérer selon la procédure utilisée) par la technique utilisée.

Analyse de l'échantillon impossible par la technique utilisée. Prière de fournir un second échantillon pour analyse.

Si avec le test *Cobas*® 4800 HPV test un des résultats pour VPH16 ou VPH18 ou autres HR VPH est positif, rappez le résultat de détection de VPH HR comme positif malgré la présence de résultats invalides pour les autres catégories de VPH.

14. LIENS UTILES

-Fiche Technique Santé-Sécurité (MSDS): http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/index_f.html

Lignes directrices sur le dépistage du cancer du col au Québec

http://www.inspq.gc.ca/pdf/publications/1279_LignesDirectDepistCancerColUterin.pdf

Références

1. **ACOG Practice Bulletin**. 2009. Cervical cytology screening. *Obs Gyn* **114**:1409-1420.
2. **Belinson, J. L., R. Wu, S. E. Belinson, X. Qu, B. Yang, H. Du, R. Wu, C. Wang, L. Zhang, Y. Zhou, Y. Liu, and R. G. Pretorius**. 2011. A population-based clinical trial comparing endocervical high-risk HPV testing using hybrid capture 2 and Cervista from the SHENCCAST II Study. *Am J Clin Pathol* **135**:790-795.
3. **Bouvard, V., R. Baan, K. Straif, Y. Grosse, B. Secretan, F. El Ghissassi, L. Benbrahim Tallaa, N. Guha, C. Freeman, L. Galichet, and V. Cogliano**. 2009. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* **10**:321-322.
4. **Canadian Partnership Against Cancer (CPACC)**. 2012. *HPV Testing for Cervical Cancer Screening Expert Panel : Summary or Evidence*.
5. **Carozzi, F. M., E. Burrioni, S. Bisanzi, D. Puliti, M. Confortini, P. Giorgi Rossi, C. Sani, A. Scalisi, and F. Chini**. 2011. Comparison of clinical performance of Abbott RealTime High Risk HPV test with that of hybrid capture 2 assay in a screening setting. *J Clin Microbiol*. **49**:1446-1451.
6. **Castle, P. E., M. H. Stoler, T. C. J. Wright, A. Sharma, T. L. Wright, and C. M. Behrens**. 2011. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: a subanalysis of the ATHENA study. *Lancet Oncol* **12**:880-890.
7. **Coutlee, F., M. H. Mayrand, M. Roger, and E. L. Franco**. 2009. Detection and typing of human papillomavirus nucleic acids in biological fluids. *Public Health Genomics* **12**:308-318.
8. **Coutlée, F., D. Rouleau, A. Ferenczy, and E. L. Franco**. 2005. Human Papillomavirus Testing. *Can j Inf Dis* **16**:83-91.
9. **Cuzick, J., L. Ambroisine, L. Cadman, J. Austin, L. Ho, G. Terry, S. Liddle, R. Dina, J. McCarthy, H. Buckley, C. Bergeron, W. P. Soutter, D. Lyons, and A. Szarewski**. 2010. Performance of the Abbott RealTime high-risk HPV test in women with abnormal cervical cytology smears. *J Med Virol*. **82**:1186-1191.
10. **Dufresne, S., P. Sauthier, M. H. Mayrand, P. Petignat, D. Provencher, P. Drouin, P. Gauthier, M. J. Dupuis, R. Hadjeres, E. L. Franco, and F. Coutlee**. 2011. HPV DNA triage of women with ASCUS living in Montreal: demonstration of differences between Amplicor HPV and Hybrid capture 2. *J Clin Microbiol* **49**:48-53.

11. **Groupe de travail sur les lignes directrices pour le dépistage du cancer du col utérin au Québec.** 2011. Les indications du test VPH, p. 21-22. *In* Institut National de Santé Publique du Québec (ed.), Lignes directrices sur le dépistage du cancer du col utérin au Québec. Montréal.
12. **Groupe de travail sur les lignes directrices pour le dépistage du cancer du col utérin au Québec.** 2011. Lignes directrices sur le dépistage du cancer du col utérin au Québec, p. 1-40. Montréal.
13. **Grandjean Lapierre, S., P. Sauthier, M. H. Mayrand, S. Dufresne, P. Petignat, D. Provencher, P. Drouin, P. Gauthier, M. J. Dupuis, B. Michon, S. Ouellet, R. Hadjeres, A. Ferenczy, E. L. Franco, and F. Coutlée.** 2012. Human Papillomavirus (HPV) DNA Triage of Women with Atypical Squamous Cells of Underdetermined Significance (ASC-US) with Cobas 4800 HPV and Hybrid Capture 2 Tests for Detection of High-Grade Lesions of the Uterine Cervix. *J Clin Microbiol* **50**:1240-1244.
14. **Heideman, D. A., A. T. Hesselink, J. Berkhof, F. van Kemenade, W. J. Melchers, N. F. Daalmeijer, M. Verkuijden, C. J. Meijer, and P. J. Snijders.** 2011. Clinical validation of the cobas 4800 HPV test for cervical screening purposes. *J Clin Microbiol.* **49**:3983-3985.
15. **Kinney, W., M. H. Stoler, and P. E. Castle.** 2010. Special commentary: patient safety and the next generation of HPV DNA tests. *Am J Clin Pathol* **134**:193-199.
16. **Kreimer, A. R., R. S. Guido, D. Solomon, M. Schiffman, S. Wacholder, J. Jeronimo, C. M. Wheeler, and P. E. Castle.** 2006. Human papillomavirus testing following loop electrosurgical excision procedure identifies women at risk for posttreatment cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 disease. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **15**:908-914.
17. **Mayrand, M. H., E. Duarte-Franco, I. Rodrigues, S. D. Walter, J. Hanley, A. Ferenczy, S. Ratnam, F. Coutlee, and E. L. Franco.** 2007. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. *N Engl J Med* **357**:1579-1588.
18. **Meijer, C. J., J. Berkhof, P. E. Castle, A. T. Hesselink, E. L. Franco, G. Ronco, M. Arbyn, F. X. Bosch, J. Cuzick, J. Dillner, D. A. Heideman, and P. J. Snijders.** 2009. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer* **124**:516-520.
19. **Murphy, J., E. B. Kennedy, S. Dunn, M. McLachlin, M. Fung Kee Fung, D. Gzik, M. Shier, and L. Paszat.** 2012. **Cervical Screening: A Guideline for Clinical Practice in Ontario.** *J Obstet Gynaecol Can* **34**:453-458.
20. **Park, Y., E. Lee, J. Choi, S. Jeong, and H. S. Kim.** 2012. Comparison of the Abbott RealTime High-Risk Human Papillomavirus (HPV), Roche Cobas HPV, and Hybrid

Capture 2 assays to direct sequencing and genotyping of HPV DNA. *J Clin Microbiol.* **50**:2359-2365.

21. **Poljak, M. and B. J. Kocjan.** 2010. Commercially available assays for multiplex detection of alpha human papillomaviruses. *Expert Rev Anti Infect Ther* **8**:1139-1162.
22. **Poljak, M., A. Ostrbenk, K. Seme, V. Ucakar, P. Hillemanns, E. V. Bokal, N. Jancar, and I. Klavs.** 2011. Comparison of clinical and analytical performance of the Abbott Realtime High Risk HPV test to the performance of hybrid capture 2 in population-based cervical cancer screening. *J Clin Microbiol.* **49**:1721-1729.
23. **Quigley, N. B., N. T. Potter, M. Chivukula, M. Z. Knight, J. R. Welch, and M. C. Olson.** 2011. Rate of detection of high-risk HPV with two assays in women over 30 years of age. *J Clin Virol* **52**:23-27.
24. **Saslow, D., D. Solomon, H. W. Lawson, M. Killackey, S. L. Kulasingam, J. Cain, F. A. Garcia, A. T. Moriarty, A. G. Waxman, D. C. Wilbur, N. Wentzensen, L. S. J. Downs, M. Spitzer, A. B. Moscicki, E. L. Franco, M. H. Stoler, M. Schiffman, P. E. Castle, and E. R. Myers.** 2012. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin* **62**:147-172.
25. **Schiffman, M., N. Wentzensen, S. Wacholder, W. Kinney, J. C. Gage, and P. E. Castle.** 2011. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* **103**:368-383.
26. **Solomon, D., M. Schiffman, R. Tarone, and S. g. ALTS.** 2001. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* **93**:293-299.
27. **Stoler, M. H., T. C. J. Wright, A. Sharma, R. Apple, K. Gutekunst, and T. L. Wright.** 2011. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. *Am J Clin Pathol* **135**:468-475.
28. **Szarewski, A., D. Mesher, L. Cadman, J. Austin, L. Ashdown Barr, L. Ho, G. Terry, S. Liddle, M. Young, M. Stoler, J. McCarthy, C. Wright, C. Bergeron, W. P. Soutter, D. Lyons, and J. Cuzick.** 2012. Comparison of seven tests for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears: the Predictors 2 study. *J Clin Microbiol.* **50**:1867-1873.
29. **The Atypical Squamous Cells of Undetermined significance/Low Grade Squamous Lesions Triage Study (ALTS) Group.** 2003. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol* **188**:1383-1392.

30. **Wahlstrom, C., T. Iftner, J. Dillner, and L. Dillner.** 2007. Population-based study of screening test performance indices of three human papillomavirus DNA tests. *J Med Virol.* **79**:1169-1175.
31. **Wright, T. C. J., L. S. Massad, C. J. Dunton, M. Spitzer, E. J. Wilkinson, and D. Solomon.** 2007. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical screening tests. *J Low Genit Tract Dis.* **11**:201-222.
32. **Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, et al.** 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S1-S27.
33. **Zhao, F. H., A. K. Lewkowitz, F. Chen, M. J. Lin, S. Y. Hu, X. Zhang, Q. J. Pan, J. F. Ma, M. Niyazi, C. Q. Li, S. M. Li, J. S. Smith, J. L. Belinson, Y. L. Qiao, and P. E. Castle.** 2012. Pooled analysis of a self-sampling HPV DNA Test as a cervical cancer primary screening method. *J Natl Cancer Inst.* **104**:178-188.
34. **Bentley J.** Colposcopic management of abnormal cervical cytology and histology. *J Obstet Gynaecol Can* 2012 Dec;34(12):1188-202.

Annexe 1 : Liste des membres du CALI

Docteure Annie-Claude Labbé <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> Hôpital Maisonneuve-Rosemont	Docteure Isabelle Tétrault <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHA Hôpital Enfant-Jésus
Madame Annick Trudelle, M.Sc <i>Conseillère scientifique</i> Institut national de santé publique du Québec	Docteur Jean-François Paradis (membre d'office) <i>Président de l'AMMIQ</i>
Madame Brigitte Lefebvre, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec	Madame Lise Guérard (membre d'office) <i>Chef de service</i> Service de lutte contre les ITSS, Ministère de la Santé et des Services sociaux
Docteure Cécile Tremblay (membre d'office) <i>Directrice scientifique</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec	Docteure Louise Charest <i>Omnipraticienne</i> Clinique médicale l'Actuel
Docteur Claude Fortin <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHUM Hôpital Notre-Dame	Docteur Marc Dionne (membre d'office) <i>Directeur scientifique</i> Institut national de santé publique du Québec
Docteure Diane Lambert <i>Médecin-conseil</i> Direction de santé publique des Laurentides	Docteur Marc Steben <i>Médecin-conseil</i> Institut national de santé publique du Québec
Monsieur Donald Murphy, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> LSPQ, Institut national de santé publique du Québec	Docteur Patrick Dolcé <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> Hôpital régional de Rimouski
Monsieur Éric Frost, Ph.D. <i>Microbiologiste</i> Université de Sherbrooke	Docteur Pierre Lebel <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> Hôpital Général de Montréal
Docteure France Morin <i>Omnipraticienne</i> CLSC la Pommeraié	Docteure Sylvie Venne <i>Médecin-conseil</i> Service de lutte contre les ITSS, Ministère de la Santé et des Services sociaux
Docteur Gilles Lambert <i>Médecin-conseil</i> Institut national de santé publique du Québec	Monsieur Raymond Parent (membre d'office) <i>Chef d'unité scientifique</i> Institut national de santé publique du Québec
Docteure Isabelle Alarie <i>Médecin microbiologiste-infectiologue</i> CHUS Hôpital Fleurimont	

Annexe 2 : Informations pertinentes

Généralités sur les VPH génitaux

Les VPH infectent les muqueuses et la peau.

Près de 42 génotypes de VPH infectent le tractus ano-génital chez l'homme et la femme. Cependant, 12 génotypes sont officiellement reconnus comme étant oncogènes et sont désignés VPH HR (génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) alors que 13 autres génotypes sont possiblement oncogéniques (dont les génotypes 66 et 68) (3).

Les VPH HR causent plusieurs cancers ano-génitaux, dont le cancer du col utérin, et certains cancers oropharyngés.

L'infection génitale par les VPH affecte plus de 80 % des individus sexuellement actifs au cours de leur vie.

L'infection génitale par les VPH est fréquente, plus particulièrement chez les femmes sexuellement actives de moins de trente ans.

La majorité des infections par VPH sont transitoires.

Seules les infections persistantes par un VPH HR peuvent causer un cancer.

Le VPH ne peut pas être isolé en culture cellulaire. De plus, les méthodes sérologiques sont complexes et ne sont disponibles que dans un contexte de recherche. La détection de l'infection par VPH s'effectue donc sur des échantillons cellulaires génitaux par des méthodes moléculaires de détection des acides nucléiques viraux.

L'utilité clinique des tests de détection des VPH HR a été démontrée pour la détection des maladies pré-invasives et invasives du col utérin.

Le dépistage du cancer du col par les VPH HR

Les lignes directrices provinciales sur le dépistage du cancer du col au Québec ont été publiées par l'INSPQ récemment :

(http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/1279_LignesDirectDepistCancerColUterin.pdf) (12).

Le premier essai clinique randomisé réalisé en Amérique du Nord sur le dépistage primaire du cancer du col en utilisant un test VPH HR fut réalisé au Québec et a démontré une sensibilité pour la détection de néoplasie intraépithéliale du col de haut grade (NIC2,3 qui est l'équivalent du CIN2,3 en anglais) pour les femmes âgées de trente ans et plus, de 94,6 % pour la détection de VPH HR et de 55,4 % pour la cytologie (17). Un deuxième essai clinique randomisé est en cours en Colombie-Britannique.

Les résultats de 8 études cliniques randomisées ont démontré que la sensibilité des tests VPH HR était supérieure à celle de la cytologie pour la détection de NIC2,3 et cancer (4,24) pour les femmes de 30 ans et plus (niveau d'évidence AI).

Une méta-analyse a démontré que la sensibilité du test VPH HR est supérieure de 37 % à celle de la cytologie (en utilisant le seuil de positivité pour la cytologie de lésion squameuse intraépithéliale de bas grade et plus ou *LS/IL+* en anglais) pour la détection de lésions de NIC3 et de cancer alors que sa spécificité était plus basse de 7 % (24). La sensibilité des tests VPH HR étaient de 28 % supérieure à celle de la cytologie en utilisant comme seuil la présence d'altérations cellulaires de signification indéterminée (ACSI) alors que les deux tests avaient une spécificité similaire (24).

Les États-Unis acceptent l'utilisation des tests VPH HR en co-détection avec la cytologie pour le dépistage primaire du cancer du col pour les femmes âgées de trente ans et plus. Certains pays Européens organisent leur programme de dépistage primaire autour des tests VPH HR.

Le dépistage du cancer du col par détection de VPH HR n'est actuellement pas en vigueur au Québec (11). Pour les milieux au Québec qui utilisent le test de détection des VPH HR pour le dépistage primaire du cancer du col en association avec la cytologie, il est important de ne l'utiliser que pour les femmes de trente ans et plus, à une fréquence qui ne doit pas être inférieure à trois ans (1,11). Avant d'implémenter à large échelle l'utilisation des tests VPH HR en dépistage primaire, il faudra définir l'algorithme de suivi des patientes ayant un test VPH HR positif et une cytologie normale, ainsi que définir la fréquence et l'intervalle du dépistage par VPH HR (11,19,24). L'utilisation des tests de détection des VPH HR pour cette finalité devrait s'organiser sur la base d'un programme provincial.

Les tests VPH HR ne peuvent être considérés pour le dépistage primaire du cancer du col que s'ils ont subi une évaluation précise (voir section 4.4) dont les paramètres ont été élaborés par un groupe d'expert international récemment (18).

Les tests actuellement approuvés par Santé Canada (voir section 4.3) qui répondent à ces critères pour la finalité du dépistage primaire du cancer du col utérin sont les tests *Hybrid Capture 2 High-risk HPV DNA test*[®] (HC2) (4,17), le *Cobas*[®] *4800 HPV test* de la compagnie *Roche Diagnostics* (6,14), le *Cervista*[™] *HPV HR test* de la compagnie *Hologic* (2) et l'*Abbott RealTime High Risk HPV test* de la compagnie *Abbott Molecular* (5).

Le triage des femmes avec une cytologie ACSI au Québec

La détection des VPH HR dans des spécimens du col utérin est indiquée au Québec pour le triage des patientes de trente ans et plus ayant un frottis cytologique du col utérin démontrant des altérations cellulaires de signification indéterminée (ACSI) (niveau d'évidence AI), mieux connu sous l'acronyme anglais ASC-US (*atypical squamous cells of undetermined significance*) (11).

La sensibilité des tests de détection des VPH HR par le test HC2[®] pour le dépistage des lésions de haut grade (NIC2,3) et de cancer du col utérin pour les femmes ayant une cytologie ACSI, s'élève à 93 % - 98 % (26,29). En comparaison, une cytologie de contrôle après une première cytologie démontrant une ACSI a une sensibilité pour détecter les lésions de haut grade et de cancer de 67 % - 85 %.

Les femmes ayant une cytologie ACSI mais dont le résultat du test est négatif ne sont pas porteuses de lésions significatives du col utérin (29). Le taux de patients orientées en colposcopie et ayant une cytologie ACSI triée avec un test VPH HR est de 56 %, ce qui évite une colposcopie pour près de la moitié des patientes. La valeur prédictive positive du test de détection de VPH HR est de 20 % et la valeur prédictive négative dans ce contexte est de 99 %. Le triage par VPH HR permet donc d'éviter pour ces femmes un examen invasif et coûteux (29).

Cette indication des tests VPH HR s'applique également aux femmes immunodéprimées (31).

Le suivi post-colposcopie des patientes dont le test VPH HR est positif

Les patientes pour qui une lésion est identifiée en colposcopie sont évaluées et suivies selon les lignes directrices en vigueur pour le traitement des lésions du col, peu importe le résultat du test VPH.

Les patientes dont le test VPH HR est positif avec ACSI et pour qui la colposcopie n'a pas identifiée de lésion du col, peuvent être suivies avec l'aide d'une cytologie de contrôle combinée

à un test VPH HR à douze mois (niveau d'évidence BII) (32). Elles sont orientées à nouveau en colposcopie si la cytologie de contrôle est anormale et/ou le test VPH HR est positif (31,32).

Des lésions NIC2,3 peuvent ne pas être visualisées lors d'une première colposcopie. Le suivi cytologique combiné à la détection de VPH HR permet de dépister ces patientes à risque de cancer au suivi (10,31,32).

Le suivi post-traitement des NIC2,3 par VPH HR

La détection des VPH HR permet également le suivi des patientes traitées pour une lésion du col de haut grade (NIC2,3) (11,16,32) (niveau d'évidence BII).

Les options de suivi post-traitement de NIC2,3 pour dépister une maladie de haut grade résiduelle ou récidivante incluent la détection de VPH HR combiné avec la cytologie à douze et vingt-quatre mois (niveau d'évidence BII) (32). Ces tests sont répétés à trente-six mois s'ils sont négatifs lors des 2 premières visites de contrôle.

Répéter un traitement ou effectuer une hystérectomie sur la base d'un test VPH HR sans examen colposcopique n'est pas acceptable (niveau d'évidence EII).

Une étude clinique multicentrique randomisée est actuellement en cours (en 2013) au Canada qui permettra de mieux cibler le rôle des tests VPH HR dans ce contexte clinique.

Annexe 3 : Principes analytiques des tests VPH HR

Trois stratégies analytiques ont été développées pour détecter la présence d'une infection par le VPH (7) :

1. les tests génériques qui permettent de détecter la présence de génotypes HR comme groupe sans préciser le ou les génotypes impliqués ;
2. le génotypage extensif spécifique de type qui permet un génotypage individuel et complet ;
3. le génotypage ciblé qui permet le génotypage individuel de quelques génotypes pertinents (en général 16 et 18) (7,21,25).

Les tests actuellement utilisés en diagnostic appartiennent aux catégories des tests génériques pour les VPH HR. Ceux-ci peuvent être combinés avec le génotypage ciblé des génotypes 16 et 18.

Les tests génériques détectent la présence d'ADN (HC2® par amplification de signal, *Amplicor® HPV test* par amplification génomique et *Cervista™ HPV HR test* par la technique « *Invader* ») ou d'ARNm (*APTIMA® HPV* de la compagnie *Gen-Probe* n'est pas encore approuvé au Canada pour usage diagnostique par amplification par transcription) de 13 à 14 VPH HR (génotypes 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 et parfois 66). Il existe une réaction d'hybridation croisée des réactifs de HC2® et *Amplicor® HPV test* avec d'autres génotypes HR non inclus dans le mélange de sondes et avec certains types non-oncogéniques, ce qui contribue à diminuer la spécificité de ces tests (4,8,10).

Certains tests combinent une analyse générique avec un génotypage ciblé et rapportent la présence d'ADN de 12 génotypes HR comme groupe et la présence de VPH16 et 18 séparément. Ces tests sont le *Cobas® 4800 HPV test* et *Abbott RealTime High Risk HPV test* qui utilisent l'amplification génomique en temps réel dans une plateforme entièrement automatisée pour traitement des spécimens, l'amplification et la détection des amplicons. Le test *Cervista™ HPV 16/18* utilise la méthode « *Invader* » et est combiné avec le test *Cervista™ HPV HR test*. Dans une étude utilisant cette stratégie sur 4 219 participantes, le risque de NIC2,3 et cancer des femmes dont le test VPH16 ou VPH18 est positif était de 11,4 % (95 % CI, 8,4 % - 14,8 %) comparativement à 6,1 % (95 % CI, 4,9 % - 7,2 %) pour les femmes dont le test VPH HR est positif et à 0,8 % (95 % CI, 0,3 % - 1,5 %) pour les femmes dont le test VPH HR est négatif (6).

Analyses de génotypage complet. Le *Linear array®* de *Roche Diagnostics* permet la détection individuelle de 36 génotypes génitaux. Son utilisation est restreinte pour l'instant à la recherche et la surveillance épidémiologique (4,8).

Annexe 4 : Types détectés par chaque test VPH HR

Test	Génotypes
HC2®	16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68
Amplicor® HPV test	16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/68
Cervista™ HPV HR test	16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68
Cobas® 4800 HPV test	16, 18, et 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68
Abbott RealTime High Risk HPV test	16, 18, et 31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68

Annexe 5 : Milieux de transport et conservation des échantillons

Tests	Milieux de transport (temps et température de conservation)		
	<i>PreservCyt</i> ®	<i>SurePath</i> ®	STM™
HC2®	Oui (12 sem., 2°C - 3°C)	Oui (inconnu)	Oui (2 sem., 24°C ou 3 sem., 4°C ou 12 sem., -20°C)
<i>Amplicor</i> ® HPV test	Oui (3 sem., 24°C ou 8 sem., 2°C - 8°C)	Oui (2 sem., 2°C - 8°C)	Non
<i>Cervista</i> ™ HPV HR test	Oui (18 sem., 2°C - 30°C)	Non	Non
<i>Cobas</i> ® 4800 HPV test	Oui (26 sem., 2°C - 30°C)	Oui (2 sem., 15°C - 30°C ou 26 sem., 2°C - 8°C)	Non
<i>Abbott RealTime High Risk</i> HPV test	Oui (16 sem., 15°C - 30°C ou 26 sem., 2°C - 8°C)	Oui (8 sem., 15°C - 30°C ou 26 sem., 2°C - 8°C)	Inconnu (dilution 1/30)

Le milieu *Specimen Transport Buffer* de la trousse *Abbott Cervi-Collect Specimen Collection Kit* ne peut être utilisé qu'avec la trousse *Abbott RealTime High Risk HPV test* (spécimen conservé pour 2 semaines à 2°C - 30°C ou 12 semaines à -10°C)

Le milieu *Cobas*® *PCR Cell Collection Media* ne peut être utilisé qu'avec la trousse *Cobas*® *4800 HPV test* (spécimen conservé pour 26 semaines de 2°C - 30°C)

Le milieu *SurePath*® est en évaluation par Santé Canada pour le test *Abbott RealTime High Risk HPV test*.