

RAPPORT ANNUEL

D'ACTIVITÉ 2024

CNR Papillomavirus

	Organisme / Structure d'hébergement	Responsable
Laboratoire CNR	CHU de Besançon	Jean-Luc Prétet

GUIDE DE REMPLISSAGE

Conformément à l'arrêté du 2 mars 2022 fixant leur cahier des charges, les Centres Nationaux de Référence (CNR) sont tenus de transmettre chaque année un rapport annuel portant sur l'activité du CNR pour l'année « N » à Santé publique France avant la fin du premier semestre de l'année « N+1 ». Ce rapport doit être conforme au rapport-type national défini par le Comité des CNR aux fins de définir un cadre de présentation homogène des activités du CNR et de ses éventuels laboratoires associés.

Si le CNR comporte un ou plusieurs laboratoires associés, le CNR – Laboratoire coordonnateur doit présenter un rapport commun faisant la synthèse des activités des laboratoires concourant aux missions du CNR.

Ce rapport décrit les activités du CNR et produit une analyse des données recueillies au cours de l'année « N ». Il doit être concis, éviter les redondances, privilégier les illustrations pour les résultats (graphes, cartes, tableaux). Il s'agit de fournir un travail de synthèse mettant en exergue les points forts du bilan d'activité de l'année.

Ce rapport doit inclure un résumé analytique, en français et en anglais, de 300 mots maximum (2700 caractères) destiné à être publié sur le site de Santé publique France.

Ce rapport comporte 3 annexes, regroupées à la fin du document :

- Les annexes 1 et 2 ont pour objet de rappeler les missions et l'organisation du CNR d'une part, ses capacités techniques d'autre part. Ces éléments sont pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature. Seuls les éléments nouveaux (changement d'organisation, de locaux, nouvelles capacités ...) doivent figurer dans le corps du rapport.
- L'annexe 3 regroupe des informations confidentielles, à l'attention de Santé publique France et de son Comité des CNR, non destinées à être rendues publiques : permanence du CNR, détenteurs d'autorisations MOT (Micro-Organismes et Toxines), détenteurs d'autorisations d'exercer la biologie médicale (AEBM), résultats de recherche non encore publiés ou sous embargo, difficultés rencontrées, liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR (cf déclarations d'intérêts et engagement déontologique signé par les responsables des CNR (en précisant la nature des activités, les financements éventuels obtenus et la destination de ces financements). Cette annexe 3 doit figurer dans un document PDF distinct ou être détachable de la version papier fournie.

Il vous est demandé de respecter rigoureusement ce plan-type qui concorde avec celui de la grille d'évaluation utilisée par les experts du Comité. A l'exception de son annexe 3, ce rapport annuel d'activité a vocation à être publié sur le site web du CNR.

NB : Les contrôles de contenus insérés dans la matrice du document sont supprimés dès que vous commencez la saisie, ils rappellent ce qui est attendu par les experts du Comité des CNR

Guide de remplissage.....	2
Résumé analytique.....	5
Faits marquants.....	5
Executive summary	6
Highlights 6	
1. Missions et organisation du CNR	7
Organigramme.....	7
Mission et Organisation	7
Démarche Qualité.....	7
2. Activités d'expertise	8
2.1 Evolution des techniques.....	8
2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse.....	8
2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires	9
2.4 Collections de matériel biologique	9
2.5 Activités d'expertises	10
2.6 Activités de séquençage	10
2.7 Partage de séquences produites par les CNR.....	12
3. Activités de surveillance	13
3.1 Description du réseau de partenaires	13
3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections	14
3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux.....	14
3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux	15
3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance	15
4. Alertes	19
5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil	21
5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé.....	21
5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires	24
5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)	24
6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR	26
6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	26
6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR.....	28
7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux	31
8. Programme d'activité pour les années suivantes	32
1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR	37
1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	37
1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés	38
1.3 Locaux et équipements.....	39
1.4 Collections de matériel biologique	41
1.5 Démarche qualité du laboratoire	42
2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR	42

2.1	Liste des techniques de référence	42
2.2	Liste des techniques recommandées par le CNR.....	43
3.	Annexe 3 : Autres informations (non destinées à être rendues publiques)	44
3.1	Permanence du CNR	44
3.2	Autorisations MOT	44
3.3	Autorisations d'exercer la biologie médicale.....	45
3.4	Résultats de recherches non encore publiés ou sous embargo.....	45
3.5	Difficultés rencontrées par le CNR au cours de l'année N, y compris en termes de mise à disposition de la subvention versée par Santé publique France	45
3.6	Liste des activités menées par le CNR en lien avec des entreprises ou établissements industriels ou commerciaux dont les produits entrent dans le champ d'expertise du CNR.....	45
3.7	Autres remarques à destination du comité des CNR.....	45
4.	Annexe 4 : Recensement des collections de matériels biologiques (non destinées à être rendues publiques) _	46

RÉSUMÉ ANALYTIQUE

Faits marquants

Le déploiement et l'utilisation de tests de détection des papillomavirus humains (HPV) haut risque, pertinents cliniquement, ainsi que la surveillance épidémiologique des infections par les HPV, sont des enjeux majeurs dans le contexte de l'organisation du dépistage du cancer du col de l'utérus et de la mise en place du dépistage du cancer de l'anus par des tests HPV, ainsi que de l'augmentation progressive de la couverture vaccinale, notamment grâce au programme scolaire de vaccination. Le CNR papillomavirus s'est donc investi dans des études de reproductibilité intra- et inter-laboratoire pour valider cliniquement les nouveaux tests HPV. Par ailleurs, il a poursuivi le développement de nouvelles techniques de caractérisation et de quantification des HPV haut risque pour ses activités d'expertise et a également validé la faisabilité de la détection des HPV dans les eaux usées comme outil de surveillance à l'échelle populationnelle. L'investissement du CNR Papillomavirus dans de grandes études menées en France, notamment en partenariat avec Santé publique France et l'INSERM, lui a permis de produire des données originales sur la prévalence des HPV en populations générale ou vulnérable, chez les hommes et les femmes, et d'inférer l'efficacité vaccinale. Sur le plan international, l'implication du CNR dans le réseau de centres de références HPV LabNet lui a permis d'explorer plus avant des approches de dépistage complémentaires au test HPV actuellement utilisé. Ainsi, des travaux originaux sur la pertinence de la charge virale permettront probablement à terme de définir les prochains standards du dépistage des 12 HPV haut risque. Enfin, pour garantir l'efficacité des outils utilisés en France pour le dépistage, nous avons mis en place un contrôle interlaboratoire qui permettra à chaque participant de vérifier la pertinence de ses tests HPV.

EXECUTIVE SUMMARY

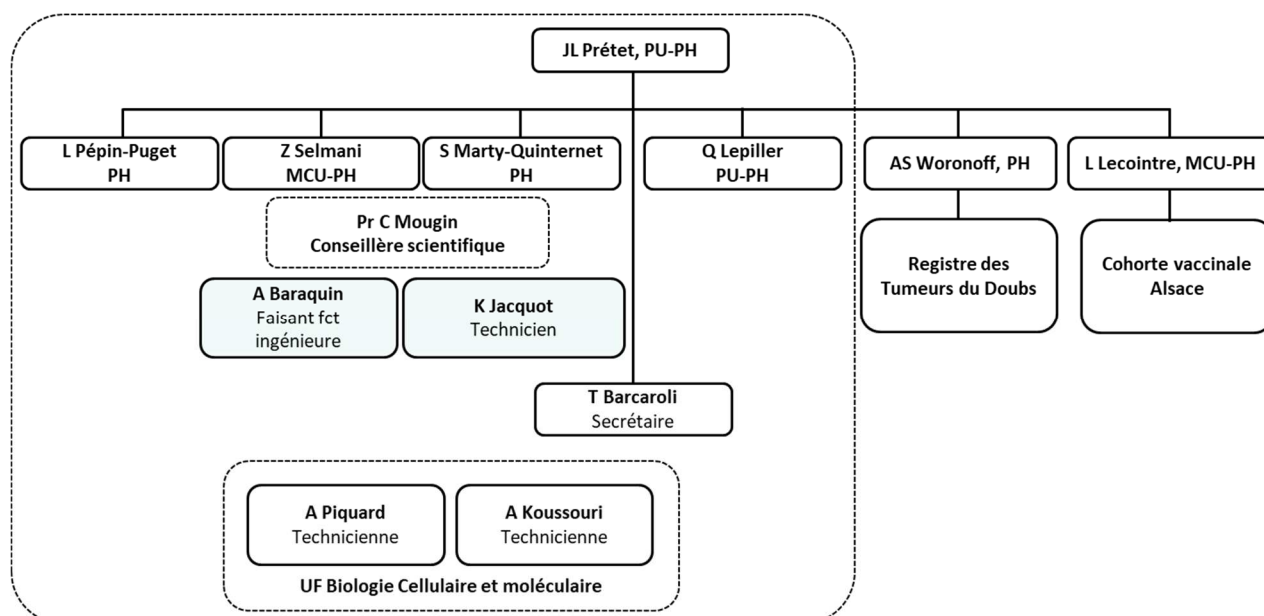
Highlights

The deployment and use of clinically relevant high-risk human papillomavirus (HPV) tests, as well as the epidemiological surveillance of HPV infections, are major challenges in the context of the organization of cervical cancer screening and the introduction of anal cancer screening using HPV tests, as well as the gradual increase in vaccination coverage, notably through the school vaccination program. The papillomavirus NRC has therefore invested in intra- and inter-laboratory reproducibility studies to clinically validate the new HPV tests. In addition, it continued to develop new techniques for characterizing and quantifying high-risk HPV for its expertise activities, and also validated the feasibility of detecting HPV in wastewater as a population-wide surveillance tool. The Papillomavirus NRC involvement in major studies carried out in France, notably in partnership with Santé publique France and INSERM, has enabled it to produce original data on HPV prevalence in the general or vulnerable population, in men and women, and to infer vaccine efficacy. Internationally, the NRC's involvement in the HPVLabNet network of reference centers has enabled it to further explore screening approaches complementary to the HPV test currently in use. In this way, original work on the relevance of viral load will probably make it possible to define the next standards for the screening of the 12 high-risk HPV. Finally, to guarantee the effectiveness of the screening tools used in France, we have set up an interlaboratory control which will enable each participant to check the relevance of their HPV tests.

1. Missions et organisation du CNR

Organigramme

Organigramme du CNR Papillomavirus au 1er janvier 2024



Mme Alice Baraquin a quitté le CNR Papillomavirus et a été remplacée en cours d'année par Mme Florine Tagliaferro.

Le Professeur Jean-Luc Prétet est le responsable du CNR Papillomavirus.

Mission et Organisation

Aucune évolution majeure n'est à noter.

L'équipe médicale du CNR Papillomavirus reste pluridisciplinaire, composée de biologistes cellulaires, de virologues et d'une dermatologue. Trois enseignants-chercheurs de l'université de Franche-Comté font partie de l'équipe. Les collaborations médicales avec les services de gynécologie, de dermatologie, d'inféctiologie, de gastroentérologie et d'oncologie du CHU de Besançon sont étroites.

Démarche Qualité

Le CNR Papillomavirus fait partie du Laboratoire de Biologie Médicale du CHU de Besançon qui est accrédité ISO15189 (accréditation n° 8-3294 ; https://www.cofrac.fr/fr/organismes/fiche.php?entite_id=82078058). La détection des HPV haut risque par la technique Alinity m high risk HPV assay est accréditée (portée A) ainsi que le génotypage et la quantification de la charge virale HPV (portée B).

2. Activités d'expertise

2.1 Evolution des techniques

Nous avons finalisé la mise au point et/ou la validation des PCR en temps réel ciblant les HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59. Par ailleurs nous avons mis en place des PCR en temps réel duplex HPV31/33 et HPV52/58.

Nous disposons désormais d'outils de quantification des génomes des HPV à haut risque. Ces techniques ont été utilisées avec succès dans le cadre de l'étude internationale sur la sensibilité et la spécificité de la charge virale dans les lésions de haut grade (cf. § 6.1 et 8). Nous nous servons par ailleurs de ces outils pour nos activités d'expertise, par exemple pour la caractérisation fine de prélèvements HPV positifs en cas de discordance entre deux techniques de dépistage.

2.2 Travaux d'évaluation des techniques, réactifs et trousse

Étude de la reproductibilité intra- et inter-laboratoire de trousse commerciale de détection des HPV.

Nous avons mené ce travail en collaboration avec l'équipe du Dr D. Vanden Broeck (laboratoire AML, Anvers, Belgique), qui fournit les frottis du col de l'utérus, et avec celle du Pr M Arbyn (Sciensano, Bruxelles, Belgique), qui assure la méthodologie et les statistiques. Nous avons travaillé sur la reproductibilité des trousse de détection des HPV à haut risque « Papilloplex » (Genefirst), « AmpFire® HPV Screening 16/18/HR assay » (Atila) et « Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit » (Sansure Biotech Inc.). En pratique, après une étape de formation des techniciens à l'utilisation de trousse, une étude préliminaire sur 20 échantillons permet de valider la faisabilité et d'habiller le personnel à la réalisation des techniques. Ensuite, 550 échantillons de col de l'utérus, dont un tiers sont positifs pour un HPV haut risque, sont testés deux fois par le laboratoire belge (évaluation de la reproductibilité intra-laboratoire) et une fois par le CNR HPV (évaluation de la reproductibilité inter-laboratoire). Les résultats sont alors envoyés aux méthodologistes de Sciensano qui réalisent les études statistiques. Ces trois trousse ont montré d'excellentes reproductibilités intra- et inter-laboratoires. Ces études, en complément d'études de non-infériorité, sont nécessaires pour valider les performances cliniques des nouvelles trousse de détection des HPV à haut risque et leur utilisation dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus. Deux articles concernant les trousse « Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit » et « AmpFire® HPV Screening 16/18/HR assay » ont été publiés en 2024.

Prétet et al., The Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit offers excellent reproducibility performance for the detection of high-risk HPV J Med Virol, 2024

Cervical cancer screening is a cornerstone of cervical cancer elimination. Detection of high-risk human papillomavirus (hrHPV) is recommended as the first step in screening provided that the assay used has been adequately validated. The Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit is a new assay designed to detect HPV16, HPV18 and 13 other HPV in aggregate. The study aimed to evaluate the intra- and interlaboratory reproducibility of the assay according to international guidelines. Five hundred and fifty cervical residual cell samples from women attending cervical cancer screening were selected from the biobank of the HPV National Reference Centre in Belgium and used in this study. After DNA extraction, HPV was tested using the Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit. The lower 95% confidence limit around the general reproducibility of this assay should be greater than or equal to 87%, with $\kappa \geq 0.50$. Five hundred and thirty-three samples had valid results. The Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit demonstrated an excellent intra-laboratory reproducibility of 93.8% (95% confidence interval [CI]: 91.4–95.7, $\kappa = 0.85$). The interlaboratory reproducibility was 93.4 (95% CI: 91.0–95.4, $\kappa = 0.84$). Intra and interlaboratory reproducibility were also excellent at the genotype level. Excluding HPV53 single infection samples from the analyses also resulted in excellent agreement. These data show that the Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit is highly reproducible.

Chung *et al.*, Intra- and interlaboratory reproducibility evaluation toward international validation status of the AmpFire assay. J Med Virol, 2024

To meet the screening goal of WHO's 90-70-90 strategy aimed at eliminating cervical cancer (CC) by 2030, clinical validation of human papillomavirus (HPV) assays is essential to provide accurate and valid results through fulfilling three criteria of the international validation guidelines (IVGs). Previously, the clinical accuracy of the AmpFire® HPV Screening 16/18/HR assay (AmpFire assay) was reported but reproducibility data are lacking. Here, we aim to evaluate the intra- and inter-laboratory reproducibility of the AmpFire assay. The reproducibility of the isothermal AmpFire assay was assessed using 556 cervical cell samples collected from women attending CC screening and biobanked in a Belgian HPV national reference center. This assay detects HPV16, HPV18, and 12 other high-risk HPV (hrHPV) types (31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68) in aggregate. Lower 95% confidence interval bound around the assay's reproducibility should exceed 87%, with $\kappa \geq 0.50$. Additionally, a literature review of the assay's clinical performance was performed. The AmpFire assay showed an excellent intralaboratory (96.4%, 95% CI:94.5–97.8%, $\kappa = 0.920$) and interlaboratory (95.3%, 95% CI:93.2–96.9%, $\kappa = 0.897$) reproducibility. One study demonstrated noninferior sensitivity of a prototype AmpFire assay targeting 15 hrHPV types (including HPV53) to detect CIN2+. However, clinical specificity became similar to the comparator after removing HPV53 from analyses. The low-cost and easy-to-use AmpFire assay presents excellent reproducibility and—after removing HPV53 from the targeted types—fulfills also clinical accuracy requirements. Inclusion of HPV53, which is not recognized as carcinogenic, comprises clinical specificity of screening assays.

Critères pour les tests comparateurs de deuxième génération dans la validation des nouveaux tests HPV pour le dépistage du cancer du col de l'utérus

Ce travail a réuni un panel de 23 experts internationaux du dépistage du cancer du col de l'utérus par test HPV. L'objectif était de sélectionner, parmi les tests HPV actuellement disponibles, ceux pouvant être utilisés comme test comparateur pour valider les nouvelles troupes mises sur le marché. En effet, les troupes « historiques » (le test Hybrid Capture et le test PCR GP5+/6+) ne sont quasiment plus utilisées. Après avoir défini les critères minimaux, quatre nouveaux tests ont été identifiés pouvant être utilisés dans des protocoles de validation clinique des nouveaux tests HPV selon les critères de Meijer. Ce travail a fait l'objet d'un article.

Arbyn *et al.*, Criteria for second generation comparator tests in validation of novel HPV DNA tests for use in cervical cancer screening. J Med Virol 2024

While HC2 and GP5+/6+ PCR-EIA were pivotal in test validation of new HPV assays, they represent the first generation of comparator tests based upon technologies that are not in widespread use anymore. In the current guideline, criteria for second-generation comparator tests are presented that include more detailed resolution of HPV genotypes. Second-generation comparator tests should preferentially target only the 12 genotypes classified as carcinogenic (IARC-group I), and show consistent non-inferior sensitivity for CIN2+ and CIN3+ and specificity for $\leq$ CIN1 compared to one of the first-generations comparators, in at least three validation studies using benchmarks of 0.95 for relative sensitivity and 0.98 for relative specificity. Validation should take into account used storage media and other sample handling procedures. Meta-analyses were conducted to identify the assays that fulfill these stringent criteria. Four tests fulfilled the new criteria: (1) RealTime High-Risk HPV Test (Abbott), (2) Cobas-4800 HPV test (Roche Molecular System), (3) Onclarity HPV Assay (BD Diagnostics), and (4) Anyplex II HPV HR Detection (Seegene), each evaluated in three to six studies. Whereas the four assays target 14 carcinogenic genotypes, the first two identify separately HPV16 and 18, the third assay identifies five types separately and the fourth identifies all the types separately.

2.3 Techniques transférées vers d'autres laboratoires

Nous avons transféré au laboratoire du Pr Vincent Maréchal (Sorbonne Université & INSERM UMR_S 938, directeur de l'OBEPINE) les protocoles nécessaires à la réalisation de tests de génotypage des HPV et de quantification des HPV16/18 et de l'albumine par PCR digitale triplex. Ces techniques ont été mises en place avec succès pour l'étude des HPV dans les eaux usées (cf. § 3.5 et 7).

2.4 Collections de matériel biologique

La collection d'échantillons envoyés au CNR Papillomavirus pour expertise s'est enrichie de 217 prélèvements dans le cadre de ses activités d'expertise (261 expertises réalisées). Il s'agit d'ADN (ADN extrait de tissus congelés ou fixés et inclus en paraffine, de frottis ou de plasma). Ces échantillons sont adressés au CNR Papillomavirus par des laboratoires de biologie médicale, des cabinets d'anatomopathologie (publiques ou privés) et par des cliniciens (gynécologues, cancérologues, gastroentérologues, ORL, dermatologues, médecins généralistes).

2.5 Activités d'expertises

Le tableau ci-dessous récapitule les 261 expertises réalisées par le CNR Papillomavirus.

Localisation	Nb Prlvt	Nature Prlvt	Motif de la demande	Techniques utilisées*	Caractérisation
ORL	71	FFPE Biopsie Frottis ADN	- Papillomatose - Cancer - Hyperplasie épithéliale focale	LiPA, Luminex, séquençage de Sanger	Génotypage
Sang (ADN circulant)	56	Sang Plasma	- Récidive/suivi de tumeurs HPV+ - Aide au diagnostic	LiPA, ddPCR, qPCR	Génotypage Charge virale
Peau	40	FFPE Biopsie Squames ADN	- Verrue - Suspicion d'épidermodyplasie verruciforme - Sébacéome	Luminex, LiPA	Détection Génotypage
Anus	39	Frottis Biopsie ADN	- Dépistage - Condylome - Cancer	Alinity m, LiPA	Dépistage Génotypage
Col de l'utérus	38	Frottis ADN	- Dépistage - Cancer - Discordance entre 2 techniques - Comparaison de méthode	Alinity m, LiPA	Dépistage Génotypage
Vulve	3	FFPE	- Cancer - Condylome	LiPA	Génotypage
Pénis	2	Biopsie	- Condylome	LiPA, Luminex	Génotypage
Vagin	1	AutoPrlvt	- Suivi de traitement	LiPA	Génotypage
Autres					
Cornée	2	Biopsie	Bilan pré-greffe	LiPA	Génotypage
Ganglion	2	FFPE	Cancer	LiPA	Génotypage
Poumon	2	FFPE	Cancer	LiPA	Génotypage
Sillon inter-fessier	1	FFPE	Dysplasie de bas grade	LiPA	Génotypage
Pelvis	1	Biopsie	Tumeur de Buchke-Lowenstein	LiPA	Génotypage
Cerveau	1	ADN	Cancer	LiPA	Génotypage
Foie	1	ADN	Cancer	LiPA	Génotypage
Épiploon	1	FFPE	Cancer	LiPA	Génotypage

*ddPCR : PCR digitale en gouttelettes ; LiPA : Génotypage des HPV alpha ; qPCR : PCR en temps réel pour détermination des charges virales ; Luminex : Génotypage des HPV bêta et gamma ; Sanger : Séquençage de Sanger pour le génotypage des HPV ; Alinity m : Détection des HPV haut risque validée pour le dépistage du cancer du col de l'utérus.

Le délai moyen de rendu des résultats du CNR aux laboratoires n'excède pas 15 jours. Il est à noter qu'il n'y a pas d'urgence à rendre un diagnostic d'infection par HPV.

2.6 Activités de séquençage

La majorité des génotypages HPV effectués par le CNR (expertises ou surveillance systématique de la circulation des génotypes d'HPV chez les femmes vaccinées) est réalisée par la technique INNO-LiPA® HPV Genotyping Extra II ou par une technique Luminex®. Pour certaines indications, le CNR dispose de techniques de séquençage complémentaires comme le séquençage Sanger ou le NGS.

En 2024, le CNR a séquençé trois échantillons pour caractériser un HPV dans des cas de maladie de Heck ou de suspicion de maladie de Heck. Cette maladie rare est associée majoritairement à une infection par les HPV13 et HPV32, deux types qui ne sont pas couverts par les techniques ciblées dont nous disposons. Nous réalisons donc des PCR avec des amorces dites « consensus » permettant l'amplification de plusieurs dizaines d'HPV et les amplicons sont ensuite séquencés. Les trois cas étaient HPV13.

Nous n'avons pas eu besoin de réaliser de séquençage par NGS cette année.

Le CNR a-t-il eu accès à une plateforme de séquençage ?

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
× OUI	Plateforme de séquençage du laboratoire de Biologie du CHU de Besançon
	Séquençage de Sanger (ABI 3500), NGS (MiSeq)

Le CNR a-t-il eu accès à une expertise bio-informatique ?

☐ NON	Si NON ou accès limité, précisez les raisons
× OUI	Unité Fonctionnelle hospitalière de bio-informatique ; plateforme universitaire de bio-informatique 2B2S
	Outils Open Source, outils maison

Le CNR a-t-il fait appel aux techniques de séquençage à des fins de santé publique ?

☐ NON	
× OUI	Il n'y a pas à ce jour de recommandation de séquençage des HPV à des fins de santé publique. Toutefois, le suivi des génotypes d'HPV est réalisé par un autre test et nous avons accès à du séquençage pour compléter ces données de génotypage si besoin.

Si le séquençage est utilisé par le CNR, décrivez ci-dessous les analyses bio-informatiques conduites (cgMLST, wgMLST, serogroupe/serotype prediction, resistome prediction, analyse phylogénétique, ...) et précisez si elles sont faites en première ligne ou en complément d'autres techniques (indiquez alors lesquelles)

Non applicable

Séquençage utilisé à des fins d'investigations d'épidémies :

Non applicable

Séquençage utilisé à des fins de surveillance :

Trois prélèvements séquencés par Sanger pour caractériser les HPV présents dans des cas de maladie de Heck. Les HPV impliqués dans cette maladie ne sont pas couverts par nos techniques ciblées.

Séquençage à la demande.

En complément : recherche et génotypage systématique des HPV sur les prélèvements de femmes vaccinées (technique INNO-LiPA)

Séquençage utilisé par le CNR, où sont déposées les séquences :génomés assemblés ou séquences brutes (fastQ files) ?

Dans les bases de données fermées : **Les séquences ne sont pas déposées**

Dans des bases de données publiques (European Nucleotide Archive (ENA) par exemple) avec ou sans métadonnées associées : **Non applicable**

2.7 Partage de séquences produites par les CNR

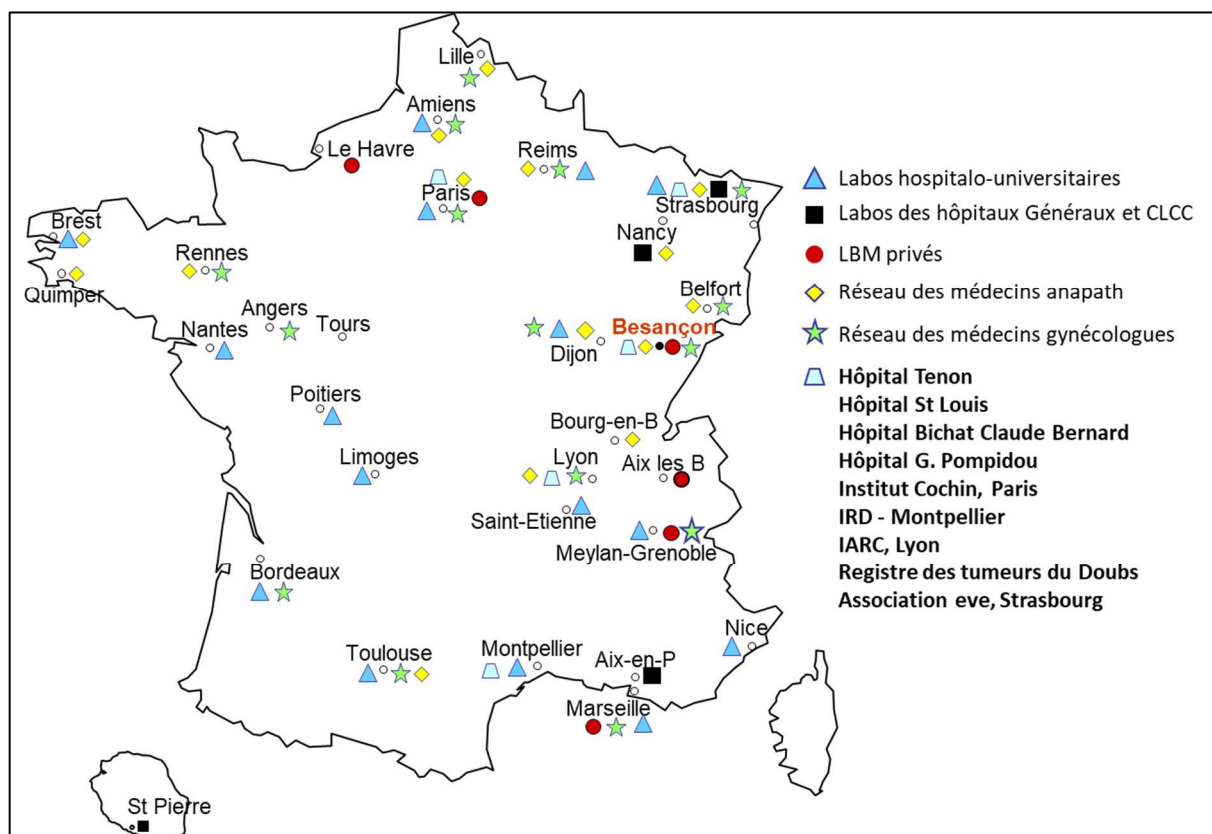
Non applicable

3. Activités de surveillance

Plusieurs études de cohortes sont en cours afin de déterminer la prévalence des HPV au niveau anogénital chez des sujets hommes et femmes, en population générale (iPredict, PrevIST) ou en population à risque (Papillor, ANAPreP-HPV). L'étude PrevIST nous a permis d'estimer que 50 % des jeunes femmes et 35 % des jeunes hommes âgés de 18 à 29 ans sont porteurs d'un HPV au niveau génital. L'analyse des données socio-démographiques associées nous permettra d'estimer l'efficacité vaccinale en population générale. Cette efficacité vaccinale est d'ailleurs attestée par la faible prévalence d'HPV16 /18 que nous rapportons dans une cohorte hospitalière de femmes ayant déclaré avoir été vaccinées et participant au dépistage du cancer du col de l'utérus. Concernant la population de hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH) sous Prep, le portage anal est très élevé, plus des 4/5 des sujets présentant un HPV. Enfin, nous avons, en collaboration avec le réseau OBEPINE, validé la faisabilité de la détection des HPV dans les eaux usées et cette approche pourra être utilisée pour suivre l'épidémiologie de la circulation des HPV, notamment dans un contexte de vaccination.

3.1 Description du réseau de partenaires

Réseaux nationaux des laboratoires, des cabinets d'anatomopathologie et des cliniciens



Le CNR Papillomavirus dispose de trois réseaux sur le territoire national comprenant

- un réseau de laboratoires de biologie médicale composé essentiellement de laboratoires hospitaliers (CH et CHU) et de quelques laboratoires privés,
- un réseau de pathologistes exerçant dans des structures hospitalières (CH, CHU, CLCC) et privées,
- un réseau de cliniciens.

Ces réseaux couvrent le territoire métropolitain et certains territoires ultra-marins comme la Réunion et la Guyane.

Réseau international des centres de référence HPV (HPV LabNet)



Ce réseau est constitué des centres de référence des pays suivants : Allemagne, Argentine, Australie, Belgique, Écosse, France, Japon, Norvège, Pérou, Rwanda, Slovaquie, États-Unis. Les centres de référence de Turquie et d'Afrique du Sud ne font plus partie du réseau. La réunion annuelle du réseau s'est tenue le 18 octobre 2024 en visioconférence (cf. § 3.4).

3.2 Surveillance de l'évolution et des caractéristiques des infections

Bilan des expertises réalisées par le CNR

Le CNR Papillomavirus a réalisé 261 expertises en 2024, un nombre qui a augmenté de 20% par rapport à l'année dernière. Le nombre de prélèvements pour la recherche et la quantification d'ADN d'HPV circulant à partir d'une prise de sang dans le cadre du suivi des patients atteint d'un cancer HPV+ est resté constant. En revanche, nous notons une nette augmentation du nombre de prélèvements ORL et anaux. Les prélèvements ORL étaient en majorité des cancers pour lesquels une recherche d'HPV permet d'évaluer le pronostic. Les prélèvements de l'anus nous ont été adressés essentiellement dans le cadre du dépistage des lésions anales suite à la publication des recommandations pour la pratique clinique publiée par la Société Française de Colo-Proctologie.

Les autres indications d'expertise restaient variées, à titre d'exemple :

- Recherche d'une étiologie virale de lésions cutané-muqueuses (suspicion d'épidermodysplasie verruciforme, maladie de Heck), de métastases de cancer primitif inconnu,
- Génomique des HPV responsables de lésions typiques (papillome, condylome),
- Résolution de discordances de résultats entre deux techniques, notamment dans le cadre de la détection des HPV haut risque pour le dépistage du cancer du col de l'utérus.

3.3 Surveillance de la résistance des agents pathogènes aux anti-infectieux

Non applicable.

Cependant, une surveillance systématique de la circulation et de l'épidémiologie de différents génotypes d'HPVα (détection d'ADN HPV et génotypage) est réalisée sur l'ensemble des frottis cervico-utérins provenant de femmes vaccinées contre HPV et prélevées au CHU de Besançon dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus. Un bilan épidémiologique portant sur 464 femmes vaccinées contre HPV a été réalisé en 2024 et a fait l'objet d'une présentation affichée en congrès international (Gross S, ESCV, 2024), d'une communication orale (Gross S, AFIPP, 2024) et une publication est en cours de préparation. Ce bilan actualise un précédent état des lieux sur la circulation des génotypes d'HPV chez les femmes vaccinées publié en 2018 par nos soins (Bretagne CH, J Gynecol Obstet Hum Reprod, 2018).

3.4 Interfaces avec les réseaux de surveillance nationaux ou internationaux

Partenariat avec Santé publique France : Projet 3 Labos

Le réseau 3 Labos repose sur la transmission automatique à Santé publique France de données anatomocytopathologiques et microbiologiques pour plusieurs agents pathogènes, dont les HPV, par les laboratoires Biomnis et Cerba. Ce projet, initié par Santé publique France lors du précédent mandat, n'a pas été priorisé compte-tenu des conditions sanitaires liées à la Covid-19. Ce partenariat reste d'actualité pour ce mandat et la réactivation de ce projet est à l'initiative de Santé publique France.

Partenariat avec des réseaux internationaux

Le CNR Papillomavirus fait partie de l'HPV LabNet, un réseau international de 13 Laboratoires de Référence Papillomavirus. Ce réseau a pour objectif d'organiser et de structurer la recherche sur les infections à papillomavirus avec une attention particulière de coordonner une réflexion internationale sur la prévention de ces infections et des lésions associées, en particulier par le dépistage basé sur le test HPV. En octobre 2024, nous avons tenu notre réunion annuelle en visioconférence au cours de laquelle (i) deux nouveaux centres de référence basés au Pérou et au Rwanda ont été accueillis (ii) chaque laboratoire partenaire a fait le point sur ses activités nationales et (iii) l'avancement des projets du réseau a été présenté :

- Manuel en ligne et ressources électroniques pour la détection des HPV (HPV LabNet) : cet ouvrage collectif sera à la disposition de tout acteur impliqué dans la détection des HPV. Les différents chapitres abordent, outre des généralités, les différentes étapes pratique de la réalisation d'un test HPV et incluent des aspects d'assurance qualité, d'organisation ou encore de mise en place d'un laboratoire. Dix chapitres sur les onze prévus sont finalisés (écriture et relecture), le dernier étant en cours de rédaction. Notre CNR a participé à la rédaction du chapitre « Nucleic Acid extraction » et a relu les chapitres « Collection and handling of specimens for HPV testing » et « HPV detection and typing ».
- Étude de l'intérêt du génotype et de la charge virale pour le dépistage des lésions de haut grade. Ce travail implique 10 centres de références qui ont évalué qualitativement et quantitativement la présence de 12 HPV haut risque dans 101 lésions de haut grade et 202 tissus témoins. Des dilutions de standards internationaux ont ensuite été distribués afin d'établir des courbes de calibration pour la quantification (cf. § 3.1 et § 8).
-

3.5 Enquêtes ou études ponctuelles concourant à la surveillance

PrevIST : Enquête nationale de prévalence des infections sexuellement transmissibles en France

Objectif : Estimer la prévalence génitale des HPV chez les femmes vaccinées et non-vaccinées de 18 à 29 ans et l'efficacité vaccinale vis-à-vis des HPV vaccinaux (6/11/16/18). Estimer la prévalence pénienne des HPV chez les hommes de 18 à 29 ans.

Partenaires : SpF, INSERM, CNR des IST.

Contribution du CNR : Génotypage des HPV sur les autoprélèvements vaginaux et péniers.

État d'avancement : Enquête Sexualités et Santé Sexuelle (E3S) finalisée. Réception et génotypage de 912 auto-prélèvements. Analyses statistiques en cours par SpF.

Principaux résultats : Le CNR Papillomavirus a reçu 560 auto-prélèvements vaginaux et 362 auto-prélèvements péniers. Cinq auto-prélèvements péniers ont été exclus en l'absence d'ADN dans les échantillons. La prévalence d'infection par HPV est de 50% chez les femmes (41% d'infections multiples) et de 35% chez les hommes (35% d'infections multiples). Dans les auto-prélèvements vaginaux, les génotypes les plus fréquemment détectés sont les HPV53 (7,9%), HPV66 (6,4%), HPV52 (5,4%) et HPV51 (4,8%) ; les HPV16, 18, 6 et 11 sont détectés dans 2,5%, 1,1%, 1,4 et 0,4% des cas respectivement. Dans les auto-prélèvements péniers, les génotypes les plus fréquemment détectés sont les HPV51 (5,3%), HPV89 (3,6%), HPV53 et 66 (3,4%) ; les HPV16, 18, 6 et 11 sont détectés dans 1,7%, 0,3%, 1,4 et 0,3% des cas respectivement. Ces résultats préliminaires indiquent que la prévalence de l'infection par HPV est élevée au niveau génital chez les jeunes hommes et jeunes femmes.

i-Predict : Prévalence de l'infection à papillomavirus humains (HPV) chez les jeunes femmes de 18-24 ans

Objectif : Étudier la prévalence des HPV haut risque chez les participantes vaccinées et non vaccinées. Calculer l'efficacité vaccinale contre les HPV16 et 18.

Partenaires : INSERM U1018 CESP, CNR des IST.

Contribution du CNR : Génotypage des HPV, charges virales HPV.

État d'avancement : L'étude est toujours en attente des autorisations réglementaires.

Principaux résultats : Non applicable.

Distribution des HPV dans une population hospitalière de femmes vaccinées contre les HPV

Objectif : Déterminer la prévalence et la distribution des HPV vaccinaux et non vaccinaux dans les frottis de femmes vaccinées.

Partenaires : Service de gynécologie obstétrique du CHU de Besançon.

Contribution du CNR : Recueil des frottis, génotypage, pilotage de l'étude.

État d'avancement : Données présentées en congrès international (Gross S, ESCV, 2024) et national (Gross S, AFIPP, 2024). Manuscrit en préparation.

Principaux résultats :

Les frottis cervico-utérins de 464 femmes vaccinées et âgées en moyenne de 28 ans ont été analysés (période 2018-2023) par un test HPV de dépistage [Hybrid Capture 2 (Qiagen) ou Abbott Alinity m (Abbott)] et par une technique de génotypage couvrant 32 génotypes d'HPVα (INNO-LiPA, Fujirebio). Le génotypage a permis de détecter la présence d'un HPVα chez 60% des femmes. La part d'infections multiples était de 25%. Des anomalies cytologiques étaient observées chez 18,5% des femmes (0,9 % HSIL, 7,8% LSIL, 9,9% ASC-US). Les génotypes d'HPVhr les plus fréquemment détectés étaient HPV52 (8,2%), HPV51 (6,9%) et HPV56 (5,8%). La détection d'HPV 16/18 était rare (4,5%). Les résultats obtenus étaient proches de ceux observés par notre équipe sur la période 2006-2011 (Bretagne CH, J Gynecol Obstet Hum Reprod, 2018), ce qui suggère une absence de modification de la prévalence et de la distribution des génotypes d'HPV chez les femmes vaccinées depuis l'introduction de la vaccination en France.

HPV et eaux usées

Objectif : Évaluer la faisabilité de la détection de l'ADN d'HPV dans les eaux usées.

Partenaires : Pr V Maréchal (Sorbonne Université), directeur de l'OBEPINE ; Pr O Rohr (Université de Strasbourg).

Contribution du CNR : Détection, génotypage et quantification des HPV à partir d'ADN extrait d'eaux usées.

État d'avancement : En cours.

Principaux résultats : Une première étude a été réalisée à partir de 5 prélèvements d'eaux usées de Guyane et 5 prélèvements d'eaux usées d'Alsace. L'ADN a été extrait à l'aide de deux techniques (technique Nuclisens sur billes et DHPI) sans concentration préalable. Deux techniques de génotypage disponibles au CNR ont été utilisées pour identifier les HPV alpha (test INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II, et test Luminex) ainsi que deux techniques de quantification par PCR en temps réel et PCR digitale (HPV16 et HPV18).

La méthode d'extraction DHPI s'est révélée peu efficace, et inutilisable avec la technique de génotypage par Luminex (absence d'amplification des témoins internes). L'extraction Nuclisens avec génotypage INNO-LiPA est l'approche la plus performante car les témoins internes ont été amplifiés à partir de tous les prélèvements. Par ailleurs, de l'ADN d'HPV a été détecté dans tous les échantillons testés, qu'ils proviennent de Guyane ou d'Alsace. Il semble que la diversité génotypique soit plus importante en Guyane qu'en Alsace. Toutefois, nous avons observé un manque de reproductibilité dans la détection des différents génotypes d'HPV. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que de très faibles quantités d'ADN d'HPV sont présentes et qu'il faudrait concentrer les eaux usées pour améliorer la robustesse de la détection des HPV.

Étude Papillor : Étude de la concordance du génotype des papillomavirus humains au niveau génital et oral dans une population de femmes infectées au niveau génital.

Objectif : Étudier la concordance des génotypes des HPV au niveau génital et oral.

Partenaires : CHU de Nancy, Institut de cancérologie de Lorraine, Université de Lorraine, l'Hôpital Nord Franche-Comté (HNFC).

Contribution du CNR : Centralisation des prélèvements des patientes du CHU de Besançon et de l'HNFC, génotypage des HPV sur ces prélèvements.

État d'avancement : Inclusion et suivi d'un an terminé. Génotypage terminé.

Principaux résultats : Les analyses statistiques sont en cours.

Dépistage de la colonisation anale par HPV chez les hommes usagers de PrEP : ANAPreP-HPV

Objectif : Dépistage et génotypage des HPV au niveau anal dans une population de PrePeurs.

Partenaires : Service des maladies infectieuses du CHU de Besançon.

Contribution du CNR : Détection et génotypage des HPV.

État d'avancement : En cours.

Principaux résultats : En 2024 nous avons reçu 56 frottis de l'anus dont 8 étaient non contributifs (prélèvements paucicellulaires). Parmi les 48 frottis, 21 (44%) étaient positifs pour un HPV haut risque avec la trousse Alinitym HR-HPV, une trousse validée pour le dépistage du cancer du col de l'utérus. Il y avait 39 frottis (81%) positif pour un HPV avec la trousse de génotypage INNO-LiPA. Cette différence était attendue compte-tenu du plus grand nombre d'HPV détectés avec la trousse de génotypage (28 HPV vs 14) et sa plus grande sensibilité analytique. Jusqu'à 7 HPV différents ont été détectés dans les prélèvements. C'est l'HPV16 qui a été le plus souvent détecté (16% des cas) suivi de l'HPV51 (17% des cas) puis des HPV58, 53, 66 et 73 (13% des cas). Ces données préliminaires montrent un portage très fréquent d'HPV au niveau anal chez les utilisateurs de PrEP, une population très à risque d'acquisition d'HPV.

Étude EDiTHG : Étude de la distribution des HPV dans les lésions précancéreuses et les cancers du col de l'utérus en Guyane.

Objectif : Estimer la prévalence des différents génotypes d'HPV haut risque retrouvés dans les lésions de haut grade (CIN 2/3) et les cancers du col utérin en Guyane.

Partenaires : CH de Cayenne, Rectorat de Cayenne, Hospices Civils de Lyon, Blossom Vaccinology.

Contribution du CNR : Génotypage des HPV.

État d'avancement : Ce projet n'a pas pu être mené en 2022 en raison de la crise sanitaire liée à la COVID-19. Le projet reste d'actualité et une vingtaine de prélèvements ont été reçus début 2023. Des contacts entre la DRCI du CHU de Besançon et du CH de Cayenne ont été établis pour l'organisation pratique et réglementaire de l'étude (échange de matériel, réalisation des analyses, répartition des financements).

Principaux résultats : Non applicable.

Hésitation vaccinale chez les acteurs de santé : connaissances sur le vaccin anti-HPV et perceptions autour de ce vaccin chez les étudiants en pharmacie et chez les pharmaciens d'officine français

Objectif : Évaluer les connaissances sur l'infection par HPV et sur le vaccin anti-HPV des étudiants en pharmacie et des pharmaciens d'officine et estimer leurs perceptions autour de ce vaccin.

Partenaires : UFR Santé, Université de Franche-Comté ; INSERM UMR 1098

Contribution du CNR : Participation à la conception du questionnaire et à l'analyse des résultats

État d'avancement : Travaux publiés (Dahes S, *Infect Dis Now*, 2024)

Principaux résultats : 220 étudiants et 55 pharmaciens ont retourné le questionnaire complété. Un manque de connaissance a été noté dans plus de 2/3 des réponses concernant le type de cancers associés aux HPV et la composition des vaccins. Néanmoins, plus de 75% des participants rapportaient une balance bénéfice-risque positive pour le vaccin anti-HPV et plus de 50% adhéraient à l'idée d'une obligation vaccinale pour les filles et les garçons. Une confiance dans la sécurité du vaccin était notée chez 84% des pharmaciens et 64% des étudiants. Ces résultats mettent en avant la faible hésitation vaccinale chez les pharmaciens et permettent de mieux cibler les points qui devront faire l'objet d'une vigilance particulière lors des formations spécifiques sur les pathologies associées aux HPV et sur la vaccination contre HPV.

Contrôle inter-laboratoire.

Objectif : Mettre en place un contrôle inter-laboratoire HPV qualitatif et quantitatif.

Partenaires : Laboratoire souhaitant participer.

Contribution du CNR : Organisation, préparation des CIQ, réception et analyse des résultats.

État d'avancement : Dans le cadre de ses missions le CNR Papillomavirus a proposé à une trentaine de laboratoires de participer à un contrôle qualité sous la forme d'un test de comparaison interlaboratoire (CIL). Un ensemble de matériaux de référence couvrant plusieurs génotypes d'HPV haut risque, dont HPV16 et HPV18 sera produit. Ces matériaux de référence seront caractérisés en termes de génotype et de charge virale normalisée sur les standards OMS. Cette comparaison interlaboratoire doit permettre de vérifier la capacité des différentes techniques de dépistage à détecter des HPV à haut risque (réponse qualitative, avec ou sans précision du(es) génotype(s) HPV détecté(s)), d'évaluer, en particulier pour HPV16 et HPV18, la réponse quantitative par le biais du Ct fourni par la trousse commerciale (lorsque le Ct est disponible), d'évaluer une charge virale par PCR digitale pour les laboratoires disposant de cette technologie. Nous avons obtenu l'accord de 24 laboratoires pour participer.

Principaux résultats : Non applicable.

4. Alertes

Les activités de surveillance et d'expertise conduites en 2024 ne nous ont pas amenés à déclencher d'alerte auprès des autorités sanitaires.

5. Activités de mise à disposition de l'information, de formation et de conseil

5.1 Conseil et expertise aux professionnels de santé

Formations aux professionnels de santé sous la forme de conférences

- Dépistage du cancer du col de l'utérus : les particularités du dépistage virologique. Association des Coordinateurs pour le dépistage des cancers. Février 2024 (JLP)
- Épidémiologie moléculaire des agents infectieux : le génotypage des papillomavirus. DU Les agents infectieux à l'ère de la génomique, Nantes Université. Mai 2024 (JLP)
- L'HPV en andrologie. 40^e congrès de la Société d'Andrologie de Langue Française, Marseille. Juin 2024 (JLP)
- Quels outils pour le dépistage HPV des lésions cancéreuses et pré-cancéreuses du col et de l'anus ? Workshops de l'AC44 « Recherche Clinique VIH » et de l'AC 53 « IST ». Paris, Juin 2024 (JLP)
- Les papillomavirus humains : Épidémiologie et test HPV. DIU de colposcopie, 25 novembre 2024 (JLP)

Formation de professionnels

- Webinar « Communiquer pour mieux vacciner contre HPV », à destination des pharmaciens de Bourgogne/Franche-Comté avec l'URPS Pharmacie et l'Ordre des Pharmaciens : 14 mai 2024 (CM et QL)
- Webinar « Vaccination HPV », à destination des enseignants des Académies de Besançon et Dijon (CM et QL)
- Vaccination against HPV: The 8th Asia-Europe Expo 'Forum Special topic on high quality development of innovative research and transformation application', Urumqi (Xinjiang, Chine), 28 juin 2024 (CM)
- HPV vaccination and its results in various countries including France : Colloque Industry-University-Research. Innovation and transformation sub-forum, First Affiliated Hospital, Guandu (Sichuan, Chine), 4 juillet 2024 (CM)
- DIU Virus et cancers : "Surveillance épidémiologique des infections par HPV », Paris.

Les modalités de diffusion des données de surveillance

Site internet du CNR Papillomavirus : www.cnr-hpv.fr

Date de création : avril 2017

Le site internet du CNR Papillomavirus propose des actualités et des informations mises à jour mensuellement relatives :

- aux activités et aux missions du CNR
- aux modalités d'envoi d'échantillons pour expertise au CNR
- à la prévention primaire (vaccination) et secondaire (dépistage) des pathologies associées aux HPV
- aux manifestations (dates et lieux) en lien avec les infections par HPV et/ou leurs pathologies associées
- aux activités de recherche avec la liste des publications

Les rapports d'activité du CNR sont en ligne sur son site internet : <https://www.cnr-hpv.fr/rapport-activite/>

Rédaction de recommandations pour la pratique clinique, mise à jour de recommandations

- **Lésions précancéreuses anales liées aux papillomavirus humains : dépistage et prise en charge**

Le CNR Papillomavirus a participé à la rédaction de recommandations pour aider les professionnels de santé à améliorer la qualité des pratiques en matière de dépistage, de prise en charge et de surveillance des lésions précancéreuses anales liées aux papillomavirus humains. Ce travail, mené par la Société Nationale Française de Colo-Proctologie a fait l'objet de Recommandations pour la pratique clinique. Ainsi trois populations de patients à risque ont été identifiées. Il s'agit

- des hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes VIH positif de plus de 30 ans
- des femmes ayant des antécédents de lésions précancéreuses et de cancers de la vulve
- des femmes greffées d'organes solides depuis plus de 10 ans.

Il est proposé de faire une recherche d'HPV16 sur frottis anal tous les cinq ans si le test est négatif. Si le test est positif, cela déclenche une cytologie réflexe et un examen clinique à la recherche d'une lésion précancéreuse. Le détail de ces recommandations est disponible en suivant le lien ci-dessous :

<https://www.snfcp.org/wp-content/uploads/2017/03/Recommandations-pour-la-pratique-clinique-2022-texte-court.pdf>

Spindler et al., Tech Coloproctol, 2024

In France, about 2000 new cases of anal cancer are diagnosed annually. Squamous cell carcinoma is the most common histological type, mostly occurring secondary to persistent HPV16 infection. Invasive cancer is preceded by precancerous lesions. In addition to patients with a personal history of precancerous lesions and anal cancer, three groups are at very high risk of anal cancer: (i) men who have sex with men and are living with HIV, (ii) women with a history of high-grade squamous intraepithelial lesions (HSILs) or vulvar HPV cancer, and (iii) women who received a solid organ transplant more than 10 years ago. The purpose of screening is to detect HSILs so that they can be treated, thereby reducing the risk of progression to cancer. All patients with symptoms should undergo a proctological examination including standard anoscopy. For asymptomatic patients at risk, an initial HPV16 test makes it possible to target patients at risk of HSILs likely to progress to cancer. Anal cytology is a sensitive test for HSIL detection. Its sensitivity is greater than 80% and exceeds that of proctological examination with standard anoscopy. It is indicated in the event of a positive HPV16 test. In the presence of cytological abnormalities and/or lesions and a suspicion of dysplasia on clinical examination, high-resolution anoscopy is indicated. Performance is superior to that of proctological examination with standard anoscopy. However, this technique is not widely available, which limits its use. If high-resolution anoscopy is not possible, screening by a standard proctological examination is an alternative. There is a need to develop high-resolution anoscopy and triage tests and to evaluate screening strategies.

- **Mise à jour des recommandations de l'INCa de prise en charge des lésions du col de l'utérus**

Brun et al., Gynecol Obstet Fertil Senol, 2025

Objectif : Actualiser les recommandations émises par l'Institut national du cancer (INCa) sur la conduite à tenir devant une femme ayant une cytologie cervico-utérine anormale.

Méthodes : Les recommandations de l'INCa sur la conduite à tenir devant une femme ayant une cytologie cervico-utérine anormale ont été publiées en 2016. En 2019, la Haute Autorité de santé (HAS) recommande le test HPV pour dépister le cancer du col chez les femmes de plus de 30 ans. Il était donc nécessaire de revoir la prise en charge initiale et le suivi des femmes ayant une anomalie de la cytologie réflexe après un test HPV positif. Nous avons utilisé la méthode de Delphi modifiée. Chaque arbre décisionnel était modifié par les 3 membres du comité d'organisation, puis présenté à 35 experts à deux reprises, afin d'obtenir leur agrément en termes de validité et de clarté.

Résultats : Ce consensus formalisé d'experts a permis la création de 17 arbres décisionnels au lieu de 15 précédemment : 13 sur la conduite diagnostique face aux différentes anomalies cytologiques, stratifiée selon l'âge, et 4 sur les indications thérapeutiques face aux anomalies histologiques. Les scores médians d'agrément étaient de 89 % (81–97).

Conclusion : Ces 17 arbres décisionnels répondent aux différentes situations que peuvent rencontrer les professionnels de santé de façon à leur permettre d'agir, de surveiller ou de déléguer selon leurs spécialités.

Activité de conseil en réponse à des professionnels de santé, aux industriels et aux patients

Le CNR Papillomavirus est sollicité par des professionnels de santé (cliniciens, biologistes, anatomopathologistes), des agences sanitaires (CNAM, ANSM, HAS), des industriels ou des patients le plus souvent par téléphone et par courriel. Ces demandes sont réceptionnées par le secrétariat (ou par le technicien / faisant fonction d'ingénieur en l'absence de la secrétaire). Une première réponse aux questions d'ordre logistique (adresse et modalité d'envoi des échantillons...) ou technique est apportée par la secrétaire ou le technicien / faisant fonction d'ingénieur. Pour des conseils d'ordre médical, la demande est transférée aux biologistes. En 2024, 52 prestations de conseils ont été recensées.

CH/CHU public	Dépistage anal HPV (9)
	Interprétation test HPV / discordances (6)
	Utilisation COBAS autre localisation que col
	Prélèvement ORL
	Renseignement détection HPV
	Modalité dépistage enfant de femme atteinte de condylome
	Nécessité sérologie post-vaccination jeune immunodéprimé
	Possibilité d'envoyer un résultat HPV à une patiente
	Demande Contrôle Interne Qualité HPV
	Inactivation HPV par le formol

Industriel du diagnostic	Validation des trousses HPV (4)
Instances de santé	Vaccination jusqu'à 26 ans Remboursement, modalité, distribution et performance des autoprélèvements vaginaux (2)
Laboratoire privé	Validation trousses HPV/milieu (4)
	Interprétation test HPV Tests HPV sur autoprélèvements vaginaux (3)
	Dépistage immunodéprimé, et tests à faire à un an HPV+ Femmes HPV+ colposcopie N depuis plusieurs années, conduite à tenir Test HPV chez un homme, après traitement de condylomes Test HPV ORL, prise en charge
Patient/particulier	Infection par HPV, risque aux autres sites, partenaires (6) Infection HPV pénienne, dépistage chez l'homme (4)

En 2024, le CNR a été beaucoup sollicité par des biologistes de CHU/CH concernant le dépistage du cancer de l'anus suite à la publication des recommandations de la Société Française de coloproctologie. Les questions portaient notamment sur les modalités de prélèvement, le circuit du prélèvement et le type de test à utiliser car les recommandations n'en font pas état. Ces praticiens se sont aussi beaucoup interrogés sur l'impact des discordances de résultats de tests HPV par deux techniques différentes. Ces discordances sont probablement liées aux modalités de validation des trousses qui sont basées sur des critères cliniques et non pas analytiques. Ainsi les performances analytiques des trousses (qui détectent par PCR multiplexe jusqu'à 14 génotypes différents) peuvent être différentes, à la marge, pour chaque génotype pris indépendamment. Les échantillons discordants présentent probablement de faibles charges virales et l'impact en termes de dépistage reste limité. Le développement de techniques de quantification pour tous les HPV haut risque (cf. §2.1) sera utile pour, le cas échéant, résoudre certains problèmes de discordance.

Les laboratoires privés ont des questions très pratiques relatives notamment à la validation clinique des trousses HPV et aux autoprélèvements.

Enfin, des particuliers appellent régulièrement le CNR pour obtenir des informations sur les infections par HPV, les risques de cancers, les traitements disponibles ou encore la conduite à tenir en cas d'infection par HPV ou de lésions associées aux HPV.

Le Pr Jean-Luc Prétet est

- Membre du conseil scientifique de la cohorte vaccinale HPV en Alsace (eve)
- Membre du conseil scientifique du programme EVOLPROOF: Are HPV vaccines evolution-proof? Multilevel evolutionary ecology of human oncoviruses. Programme porté par le Dr Samuel Alizon (IRD, Montpellier)
- Membre du conseil scientifique de l'étude DePlST-H financée par l'ANRS et pilotée par le Pr Koumavi-Ekouevi (université de Lomé, Togo) et le Pr Charpentier (Hôpital Bichat, Paris, France)
- Membre du Conseil Scientifique de la Société Française de Colposcopie et Pathologie Cervico-Vaginale
- Membre de l'AC « Infections Sexuellement transmissibles » de l'ANRS-MIE
- Membre du groupe HPV du CNGOF

Le Pr Christiane Mougin est

- Première Vice-Présidente (jusqu'en 2023) et membre fondateur de l'AFIPP (Association Francophone de recherche sur les Infections à Papillomavirus et Polyomavirus)
- Membre du Conseil Scientifique du Registre des Tumeurs du Doubs
- Membre du Conseil d'Administration du CRCDC B/FC (Centre Régional de Coordination de Dépistage des Cancers de Bourgogne Franche- Comté) de 2019 à 2024 ; Membre du CS pour le dépistage du cancer du col de l'utérus de 2022 à 2024
- Administratrice du Comité du Doubs (Besançon) de la Ligue Contre le Cancer (CD25B) depuis janvier 2018 et responsable des affaires scientifiques
- Membre du groupe *Prévention des cancers* de la Ligue Nationale Contre les Cancers de 2021 à 2024
- Relecteur auprès de l'Institut National du Cancer : Thésaurus. Surveillance post-thérapeutique des lésions précancéreuses du col de l'utérus (133 pages). Septembre 2019
- Invitée en tant qu'experte extérieure à la région Grand Est par l'Observatoire de la régionalisation du système de santé pour préparer et animer le colloque « Renforcer la prévention du cancer du col de l'utérus en région Grand Est » en partenariat avec l'Agence Régionale de Santé (ARS) Grand Est, la Région Grand Est, les URPS Médecins Libéraux, URPS Pharmaciens, URPS Infirmières/Infirmiers Libéraux et URPS Sages-Femmes Grand-Est
- Membre du collectif HPV pour la région Bourgogne-Franche-Comté

Le Dr Quentin Lepiller est

- Membre du bureau de l'AFIPP
- Membre du comité scientifique du Forum Franc-Comtois de Microbiologie et d'Infectiologie et membre de la Cellule SIDA (Besançon)
- Membre du Conseil scientifique du CRCDC B/FC (Centre Régional de Coordination de Dépistage des Cancers de Bourgogne Franche- Comté)
- Membre du collectif HPV pour la région Bourgogne-Franche-Comté

Le Dr Anne-Sophie Woronoff est

- Membre du Bureau du réseau des registres de cancers français (Francim)
- Membre du Comité de pilotage de la base de données commune Francim
- Membre du Comité de suivi du programme de travail partenarial (Francim, HCL, INCa, SpFrance)
- Référent Francim pour le cancer du col de l'utérus
- Expert du Comité d'évaluation des registres (CER, Inserm, INCa, SpFrance) depuis 2020
- Membre du Conseil Scientifique pour le dépistage du cancer du col de l'utérus du Centre Régional de Coordination de Dépistage des Cancers de Bourgogne Franche- Comté (CRCDC B/FC) depuis 2022

5.2 Conseil et expertise aux autorités sanitaires

Caisse Nationale d'Assurance Maladie

Selon l'arrêté du 16 janvier 2024, la CNAM a désormais en charge l'organisation de l'invitation et de la relance des femmes pour le dépistage organisé du cancer du col de l'utérus. L'invitation et la première relance à 6 mois sont faites de façon dématérialisée via AMELI. En cas de non-réponse, une seconde relance est prévue à 12 mois, par courrier papier, accompagnée d'un auto-prélèvement.

Le CNR Papillomavirus a été sollicité pour discuter des performances des différents dispositifs d'autoprélèvement disponibles et des tests HPV disponibles. Le CNR a rappelé que :

- il n'y a pas de différence majeure entre les différents dispositifs d'autoprélèvement selon les études publiées,
- les écouvillons secs sont probablement les plus simples à utiliser et les plus pratiques à envoyer par courrier,
- les tests HPV doivent disposer d'un témoin interne cellulaire, être basés sur une amplification de cible et être compatibles avec le dispositif d'autoprélèvement,
- les laboratoires réalisant le test HPV, notamment sur autoprélèvement, doivent être accrédités par le COFRAC.

5.3 Conseil et expertise pour d'autres cibles (médias, grand public ...)

Expertise de dossiers scientifiques (appels d'offres, financements...)

- Évaluation d'un dossier de demande d'inscription à l'HDR (Paris Cité) (JLP).
- Évaluation GIRC Nord-Ouest : HPV2: Phase 2 clinical trial evaluating secondary HPV vaccination after treatment of high-grade cervical lesions (JLP).
- Evaluation du projet ANR : PapOraCar : Involvement of human papillomavirus (HPV) in oral carcinoma (JLP).

Grand public

- Non applicable

Jury de thèse de médecine/pharmacie

- Non applicable

Jury de thèse de science

- Non applicable

Jury d'Habilitation à Diriger des Recherches

- Non applicable

Interviews

- Octobre 2024 : Marianne : Papillomavirus : "Le cancer du col de l'utérus peut être éliminé parce que le vaccin permet d'éviter l'infection" <https://www.marianne.net/societe/sante/papillomavirus-le-cancer-du-col-de-luterus-peut-etre-elimine-parce-que-le-vaccin-permet-deviter-linfection> (CM)
- Vaccination contre les papillomavirus : c'est aussi bon pour les garçons. Est Républicain, avril 2024 (CM)
- Mars 2024 : AFP : Fact Cheking « Zelftests voor het opsporen van baarmoederhalskanker zijn veilig, zeggen experts » (Les autotests de dépistage du cancer du col de l'utérus sont sûrs, selon les experts). <https://factchecknederland.afp.com/doc.afp.com.34MA872/> (JLP)
- Mars 2024 : AFP : Fact Checking oxyde éthylène et écouvillon (JLP)

6. Travaux de recherche et publications en lien direct avec l'activité du CNR

6.1 Activités de recherche en cours lors de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Caractérisation de lésions de haut grade et de cancers du col de l'utérus testés HPV négatifs.

Objectifs : Proposer un algorithme standardisé de détection des HPV pour confirmer qu'une lésion de haut grade ou un cancer du col de l'utérus est HPV négatif.

Partenariat : Scottish HPV Reference Laboratory, Edinburgh, Scotland, Laboratorio Nacional y Regional de Referencia de Papilomavirus Humanos, Buenos Aires, Argentina ; Royal Women's Hospital and department of Obstetrics and Gynaecology, University of Melbourne, Parkville, Australia ; National Reference Centre for Human Papillomaviruses, Brussels, Antwerp, Ghent, Belgium ; Unit Cancer Epidemiology, Sciensano, Brussels, Belgium ; National Reference Center for Papilloma- and Polyomaviruses, Cologne, Germany ; Norwegian HPV Reference Laboratory, Lørenskog, Norway ; Institute of Microbiology and Immunology, Ljubljana, Slovenia ; Swedish National HPV Reference Laboratory, Stockholm, Sweden ; Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA.

Apport du CNR : Leader du projet, travail bibliographique, animation du groupe, rédaction des recommandations

État d'avancement : Article publié, Prétet *et al.* J Clin Virol, 2024

Background: Some high-grade cervical lesions and cervical cancers (HSIL+) test negative for human papillomavirus (HPV). The HPV-negative fraction varies between 0.03 % and 15 % between different laboratories. Monitoring and extended re-analysis of HPV-negative HSIL+ could thus be helpful to monitor performance of HPV testing services. We aimed to a) provide a real-life example of a quality assurance (QA) program based on re-analysis of HPV-negative HSIL+ and b) develop international guidance for QA of HPV testing services based on standardized identification of apparently HPV-negative HSIL+ and extended re-analysis, either by the primary laboratory or by a national HPV reference laboratory (NRL).

Methods: There were 116 initially HPV-negative cervical specimens (31 histopathology specimens and 85 liquid-based cytology samples) sent to the Swedish HPV Reference Laboratory for re-testing. Based on the results, an international QA guidance was developed through an iterative consensus process.

Result: Standard PCR testing detected HPV in 55.2 % (64/116) of initially "HPV-negative" samples. Whole genome sequencing of PCR-negative samples identified HPV in an additional 7 samples (overall 61.2 % HPV positivity). Reasons for failure to detect HPV in an HSIL+ lesion are listed and guidance to identify cases for extended re-testing, including which information should be included when referring samples to an NRL are presented.

Conclusion: Monitoring the proportion of and reasons for failure to detect HPV in HSIL+ will help support high performance and quality improvement of HPV testing services. We encourage implementation of QA strategies based on re-analysis of "HPV negative" HSIL+ samples.

Caractérisation des charges virales cellulaires dans les infections cervicales aiguës à HPV16

Objectifs : Évaluer la fréquence de cellules infectées et le nombre de copies d'HPV16 dans les cellules de frottis du col de l'utérus.

Partenariat : IRD, MIVIGEC UMR224 CNRS, Montpellier France.

Apport du CNR : Recueil et caractérisation de frottis HPV16, analyse et interprétation des résultats.

État d'avancement : Article soumis, preprint sur MedRxiv

Human papillomavirus (HPV) 16 is the most oncogenic biological agents for humans. However, essential quantitative aspects of its infection cycle remain inadequately characterized. Specifically, the proportion of infected cells and the viral copy number per infected cell in cervical smears are not well understood. To address this, we employed a combination of limiting dilution techniques and Bayesian statistics on routine cervical smears to estimate the frequency of infected cells and the viral copy number per cell. Our methodology was initially validated through numerical simulations and cell culture experiments. Subsequently, we analyzed 38 HPV16-positive cervical smears, comprising 26 samples from patients without cytological lesions and 12 from patients with low-grade lesions. Our findings indicated that the substantial variability in viral load across samples predominantly stemmed from differences in the frequency of infected cells. Additionally, the mean number of HPV copies per infected cell was consistently low across all samples, ranging from approximately 2.3 to 100 copies. However, in samples with low-grade lesions, this number was observed to double on average. These results challenge existing assumptions regarding the biology of HPV genital infections, which are typically asymptomatic or minimally symptomatic.

Impact phénotypique des mutations H78Y et L83V de la protéine E6 d'HPV16

Objectifs : Étudier l'impact de deux mutations sur les propriétés oncogéniques de la protéine E6 d'HPV16

Partenariat : UMR Chrono-environnement, Besançon, France.

Apport du CNR : Réalisation de l'étude.

État d'avancement : Article soumis

Human papillomavirus (HPV) 16 variants may have variable oncogenic potentials, but the precise molecular motifs associated with increased risk are still unknown. Here, we investigated the phenotypic impact of the H78Y and L83V substitutions within the HPV16 E6 oncoprotein on early immune escape and p53 degradation, respectively, in an in vitro model. Although E6 inhibits the RIG-I-IRF-3-IFN- β pathway, this inhibition was not affected by the H78Y substitution in E6. Compared to the non-mutated form of E6, the L83V mutant did not induce a significant change in p53 and p21 expression, cell migration and proliferation, and resistance to apoptosis. Therefore, the H78Y and L83V substitutions in E6 HPV16 had no phenotypic impact on early immune escape and p53 degradation, respectively, in our model.

Signification clinique des test HPV positifs en dessous du seuil de décision clinique

Objectifs : Déterminer la fréquence et la signification de la détection d'HPV haut risque en dessous des seuils cliniques définis par le fabricant du test Alinity m HR-HPV assay.

Apport du CNR : Réalisation de l'étude.

État d'avancement : Node *et al.* J Med Virol 2024, Comm. affichée (Node J, ESCV, 2024) et orale (Node J, AFIPP, 2024).

The positive clinical threshold of human papillomavirus (HPV) tests validated for primary cervical cancer screening (CCS) is designed to offer an optimal balance between clinical sensitivity and specificity. However, there may be a gap between the analytical sensitivity of the test and the positive clinical threshold, referred to here as the "gray-zone." This study aims to determine the prevalence and significance of HPV results obtained in the gray-zone in routine practice. Cervical samples obtained in our institution for CCS over a 22-month-period were tested with the Alinity m HR-HPV Assay (Abbott). Clinical and biological data, including cytological results and patients' HPV history were collected. Of the 6101 samples collected, 1.7% had an HPV result in the gray-zone (102 patients). The proportion of gray-zone results varied according to HPV genotype, reaching 11.8% of samples with detectable HPV DNA in the case of HPV31/33/52/58 genotypes. Reflex cytologies showed no abnormalities or Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance results in 74.6% and 17.9% of cases, respectively. A previous or subsequent HPV-positive result with a (possibly) identical genotype was observed in 58% and 38% of cases, respectively. Two women with a history of persistent HPV detection had a CIN2+ lesion 1 year after the gray-zone result. In conclusion, the proportion of HPV results in the gray-zone varies according to genotype. No cytological abnormality is observed in the majority of cases, but a few rare patients with a history of persistent HPV infection should be closely monitored even if the HPV result is transiently located in the gray-zone.

Quantification des transcrits précoces d'HPV16 au cours de l'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus

Objectifs : Déterminer si la quantification des transcrits précoces d'HPV16 peut prédire un risque de cancers du col de l'utérus

Apport du CNR : Réalisation de l'étude.

État d'avancement : Article publié. Jacquin *et al.* J Med Virol 2024

The natural history of cervical cancer is closely linked to that of high-risk human papillomaviruses (HPV) infection. It is recognized that upon HPV DNA integration, partial or complete loss of the E2 open reading frame precludes expression of the corresponding protein, resulting in upregulation of the E6 and E7 viral oncoproteins. To better characterize HPV16 infection at the cervical level, viral load, viral DNA integration, and viral early transcript expression (E2, E5, and E6) were analyzed in a series of 158 cervical specimens representative of the full spectrum of cervical disease. Overall, the frequency of early transcript detection varied from 45% to 90% and tended to increase with lesion severity. In addition, the levels of E2, E5, and E6 transcript expression were slightly higher in high-grade lesions than in cervical specimens without abnormalities. Notably, early transcript expression was clearly associated with viral load, and no inverse correlation was found between the expression of E2 and E6 transcripts. No clear association was found between early transcript expression and HPV16 DNA integration, with the exception that samples with a fully integrated HPV16 genome did not harbor E2 or E5 transcripts. In conclusion, early HPV16 transcript expression appears to be associated with viral load rather than lesion grade. From a practical point of view, quantification of HPV16 early transcripts is difficult to translate into a relevant biomarker for cervical cancer screening.

Sensibilité et spécificité de la charge virale HPV pour les lésions de haut grade (CIN2+)

Objectifs : Déterminer les charges virales des 12 HPV haut risque permettant de prédire la présence d'une lésion de haut grade du col de l'utérus

Partenariat : Réseau international des centres de références HPV (HPV LabNet)

Apport du CNR : Centre investigateur.

État d'avancement : Étude en cours

Après avoir mis au point les PCR temps réel pour l'ensemble des géotypes ciblés (cf. § 2.1), 101 lésions de haut grade et 202 tissus témoins ont été analysés pour quantifier les 12 HPV à haut risque présents. Les résultats ont alors été envoyés à nos collègues du Centre International de Référence Papillomavirus (Stockholm, Suède) pour qu'ils soient analysés avec les résultats des 9 autres centres de référence participants. Au final, le kappa de Cohen pour les différents types de d'HPV se situait entre 0,76 et 0,92 indiquant que les résultats étaient consensuels entre les différents centres, un seuil à 70% ayant été défini au préalable. Toutefois, pour affiner et normaliser la quantification des différents types d'HPV présents dans les échantillons, un nouveau lot de standards comprenant 1, 10, 100, 1000, 10000 et 100000 copies/μL pour chaque HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 a été distribué en fin d'année aux laboratoires participants. Chaque standard sera évalué en triplicat.

6.2 Liste des publications et communications de l'année N, concernant uniquement celles ayant un lien direct avec les missions et activités du CNR

Publications nationales

- Non applicable

Publications internationales

- Mougin C. The Bourgogne-Franche-Comté (BFC) HPV Consortium: an example of a local network to increase HPV awareness and vaccine coverage through a multi-level action plan. 2024, www.HPVWorld.com, 263
- Koussouri A, Baraquin A, Desmarests M, Diallo K, Puget L, Lepiller Q, Prétet JL. Comparison of high-risk HPV detection by the AmpFire® HPV Screening 16/18/HR technique (Atila Biosystems) and the hybrid capture 2 test (Qiagen). Mol Biol Rep. 2024, 51: 52.

- Prétet JL*, Arroyo Mühr LA*, Cuschieri K, Fellner MD, Corread RM, Picconi MA, Garland SM, Murray GL, Molano M, Peeters M, Van Gucht S, Lambrecht C, Vanden Broeck D, Padalko E, Arbyn M, Lepiller Q, Brunier A, Silling S, Sørensen K, Christiansen IK, Poljak M, Lagheden C, Yilmaz E, Eklund C, Thapa HR, Querec TD, Unger ER, Dillner J. Human papillomavirus negative high grade cervical lesions and cancers: suggested guidance for hpv testing quality assurance. *J Med Virol*, 2024, 171: 105657 (*equal contribution).
- Node J, Dor F, Puget L, Ramanah R, Cot S, Bibeau F, Di Domizio N, Prétet JL, Lepiller Q. Prevalence and significance of HPV DNA detection below the clinical threshold of the commercial kit Alinity m HR-HPV assay (Abbott). *J Med Virol*. 2024, 96(2): e29465.
- Spindler L, Etienney I, Abramowitz L, de Parades V, Pigot F, Siproudhis L, Adam J, Balzano V, Bouchard D, Bouta N, Bucau M, Carlo A, Chanal J, Charpentier C, Clifford G, Draullette M, Fathallah N, Ferré V, Fléjou JF, Fouéré S, Higuero T, Kassouri L, Kurt S, Laurain A, Leclerc E, Lepiller Q, Lesage AC, Mège D, Ménard A, Merle P, Mortreux P, Noël C, Péré H, Prétet JL, Roland D, Staumont G, Tracanelli L, Vuitton L, Wylomanski S, Zaegel-Faucher O; Société Nationale Française de Colo-Proctologie. Screening for precancerous anal lesions linked to human papillomaviruses: French recommendations for clinical practice. *Tech ColoProctol*. 2024, 28(1):23.
- Prétet JL, Touzé A, Pazart L, Boiteux G, Fournier V, Vidal C, Arnold F, Ducloux D, Lepiller Q, Mougin C. Anogenital distribution of mucosal HPV in males and females before and after renal transplantation. *Infect Dis Now*. 2024, 54: 104830.
- Chung PYJ, Dhillon SK, Brunier A, Tkachenka Y, Jacquot K, Prétet JL, Vanden Broeck D, Arbyn M. Completing the international validation status of the AmpFire® HPV Screening 16/18/HR assay. *J Med Virol*, 2024, 96(6): e29688.
- Dahes S, Damerval M, Bataillard T, Lepiller Q, Nerich V. Knowledge and perceptions of French community pharmacists and pharmacy students about the papillomavirus vaccine. *Infect Dis Now*. 2024, 54:104796
- Momenilandi M, Lévy R, Sobrino S, Li J, Lagresle-Peyrou C, Esmailzadeh H, Fayand A, Le Floch C, Guérin A, Mina ED, Shearer D, Delmonte OM, Yatim A, Mulder K, Mancini M, Rinchai D, Denis A, Neehus AL, Balogh K, Brendle S, Rokni-Zadeh H, Changi-Ashtiani M, Seeleuthner Y, Deswarte C, Bessot B, Cremades C, Materna M, Cederholm A, Ogishi M, Philippot Q, Beganovic O, Ackermann M, Wuyts M, Khan T, Fouéré S, Herms F, Chanal J, Palterer B, Bruneau J, Molina TJ, Leclerc-Mercier S, Prétet JL, Youssefian L, Vahidnezhad H, Parvaneh N, Claeys KG, Schrijvers R, Luka M, Pérot P, Fourgeaud J, Nourrisson C, Poirier P, Jouanguy E, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Notarangelo LD, Christensen N, Landegren N, Abel L, Marr N, Six E, Langlais D, Waterboer T, Ginhoux F, Ma CS, Tangye SG, Meyts I, Lachmann N, Hu J, Shahrooei M, Bossuyt X, Casanova JL, Béziat V. FLT3L governs the development of partially overlapping hematopoietic lineages in humans and mice. *Cell*. 2024, 187:2817-2837
- Arbyn M, Cuschieri K, Bonde J, Schuurman R, Cocuzza C, Vandenbroeck D, Zhao F, Rezhake R, Gultekin M, De Sanjosé S, Canfell K, Hawkes D, Saville M, Hillemanns P, Dillner J, Meijer C, Berkhof J, Prétet JL, Gheit T, Clifford G, Basu P, Almonte M, Wentzensen N; Poljak M. Criteria for second generation comparator tests in validation of novel HPV DNA tests for use in cervical cancer screening. *J Med Virol*. 2024, 96(9): e29881
- Jacquin E, Saunier M, Lepiller Q, Monnien F, Mauny F, Ramanah R, Carcopino X, Riethmuller D, Mougin C, Prétet JL. The level of expression of HPV16 early transcripts is not associated with the natural history of cervical lesions. *J Med Virol*. 2024,96(9): e29875.
- Arango-Franco C, Ogishi M, Unger S, ..., Prétet JL, ..., Casanova JL, Puel A. IL-7-dependent and -independent lineages of IL-7R-dependent human T cells. *J Clin Invest*. 2024, 134(19): e180251.
- Prétet JL, Baraquin A, Chung PYJ, Puget L, Dhillon SK, Tkachenka Y, Jacquot K, Lepiller Q, Vanden Broeck D, Arbyn. The Sansure® Human Papillomavirus DNA Diagnostic Kit offers excellent reproducibility performance for the detection high-risk HPV. *J Med Virol*. 2024, 96(10): e29961.

Communications nationales

- Node J, Di Domizio N Dor F, Puget L, Ramanah R, Cot S, Bibeau F, Prétet J-L, Lepiller Q. Frequency of HPV DNA detection below the clinical decision threshold of the Alinity m HR-HPV technique (Abbott) and context of occurrence. 16^e Journées Scientifiques de l'AFIPP. 14-16 octobre 2024
- Gross S, Dor F, Dalphin L, Ramanah R, Algros MP, Prétet JL, Lepiller Q. Fréquente détection des HPV haut risque non-HPV16/18 dans une cohorte de femmes françaises vaccinées. 16^e Journées Scientifiques de l'AFIPP. 14-16 octobre 2024.
- Di Domizio N, Node J, Dor F, Puget L, Ramanah R, Cot S, Bibeau F, Prétet J-L, Lepiller Q. Frequency of HPV DNA detection below the clinical decision threshold of the Alinity m HR-HPV technique (Abbott) and context of occurrence. Oncotrans, 5-6 novembre 2024, Dijon, France

Communications internationales

- Chung PYJ, Dhillon SK, Brunier A, Tkachenka Y, Jacquot K, Prétet JL, Vanden Broeck D, Arbyn M. Completing the international validation status of the AmpFire® HPV Screening 16/18/HR assay. EUROGIN 2024 March 13-16, Stockholm, Suède
- Gross S, Dora F, Dalphin L, Ramanah R, Algros MP, Prétet JL, Lepiller Q. High-risk HPV but not HPV16/18 are frequently detected in a French cohort of vaccinated women. 26th Annual Meeting of the European Society of Clinical Virology. Frankfurt, Germany, 18-21 September 2024.

- Node J, Dor F, Puget L, Ramanah R, Cot S, Bibeau F, Di Domizio N, Prétet J-L, Lepiller Q. Frequency of HPV DNA detection below the clinical decision threshold of the Alinity m HR-HPV technique (Abbott) and context of occurrence. 26th Annual Meeting of the European Society of Clinical Virology. Frankfurt, Germany, 18-21 September 2024.
- Weiss M, Ferré VM, Prétet JL, Halimi C, Descamps V, Ghosn J, Charpentier C, Brunet Possenti F. Implication des papillomavirus du genre alpha dans la carcinogenèse des carcinomes épidermoïdes cutanés. Journées Dermatologiques de Paris 2024. 3-7 décembre 2024.
- Prétet JL for the working group from HPV Laboratory Network. National reference laboratory re-analysis of HPV-negative HSIL as means to further testing quality. International Papillomavirus Conference, 2024 November 12-15, Edinburgh, Ecosse

Conférences sur invitations

- Épidémiologie moléculaire des agents infectieux : le génotypage des papillomavirus. DU Les agents infectieux à l'ère de la génomique, Nantes Université. Mai 2024 (JLP).

Recommandations nationales

- Actualisation des recommandations émises par l'Institut national du cancer (INCa) sur la conduite à tenir devant une femme ayant une cytologie cervico-utérine anormale

7. Coopération avec les laboratoires de santé animale, de sécurité sanitaire des aliments, environnementaux

Nous avons été sollicités par le Pr V. Maréchal (Sorbonne Université), Directeur de l'Observatoire Épidémiologique des Eaux Usées (OBEPINE), pour évaluer la faisabilité de la détection des HPV dans les eaux usées comme outil de surveillance épidémiologique de la circulation de ces virus. Nous avons échangé sur le type de technique de détection des HPV à mettre en œuvre afin d'étudier la répartition des génotypes d'HPV dans les eaux usées et de les quantifier. Après avoir démontré la faisabilité de cette détection et quantification (cf. § 3.5) et transféré certaines techniques à l'équipe du Pr V Maréchal, nous poursuivrons la collaboration avec le réseau OBEPINE afin de déployer un observatoire épidémiologique des Infections Sexuellement transmissibles via les eaux usées. Au-delà de la détection des HPV (cf. § 8), ce projet vise à intégrer la détection d'autres pathogènes tels que *M genitalium*, *C Trachomatis* ou encore *N gonorrhoea*, notamment en partenariat avec le CNR des IST bactériennes. Les objectifs sont de :

- développer des techniques de quantification et de caractérisation génétique (typage de pathogènes, séquençage de gènes de résistance aux Ab) dans les eaux usées,
- comparer les données issues des eaux usées et les données épidémiologiques disponibles (CNR, réseaux sentinelles, SpF),
- évaluer le statut des pathogènes dans les eaux usées (techniques d'intégrité développées pour les virus, techniques de viabilité pour les bactéries),
- déployer le dispositif à l'échelle nationale,
- déployer le dispositif à l'échelle européenne, notamment dans des pays à faible et haute pression de vaccination HPV.

8. Programme d'activité pour les années suivantes

ACTIVITE D'EXPERTISE

Aujourd'hui, le dépistage du cancer du col de l'utérus repose en première intention sur le test HPV à haut risque, à partir de prélèvements cervico-utérins réalisés par un professionnel de santé ou par auto-prélèvement. Il est donc nécessaire de disposer d'outils permettant d'évaluer les phases pré-analytique, analytique et post-analytique des tests HPV pour un rendu optimal des résultats. Par ailleurs, il reste nécessaire d'évaluer des biomarqueurs complémentaires au test HPV (génotype, charge virale, variants viraux, épigénétique, réponses immunitaires précoces) afin de trier d'emblée, parmi les femmes HPV haut risque positives, celles qui sont les plus à risque d'une lésion de haut grade. Il est également important de proposer de nouveaux tests, facilement accessibles et réalisables, notamment pour les pays en voie de développement.

Évaluation de la qualité des prélèvements pour la réalisation d'un test HPV

Au-delà de la validation clinique des trousse de détection des HPV, la phase préanalytique (prélèvement, stockage et conservation des échantillons cervico-utérins) est essentielle. Dans ce contexte, un enjeu est de disposer de prélèvements adéquats et utilisables avec les trousse de détection des HPV, notamment en cas d'autoprélèvement. Il existe aujourd'hui deux milieux de cytologie liquide validés pour la réalisation des tests HPV, et d'autres milieux existent sur le marché. Par ailleurs, il existe de nombreux dispositifs d'autoprélèvement vaginal. Il est donc essentiel de disposer de critères permettant de qualifier un échantillon cervico-utérin, notamment lorsque de nouveaux dispositifs ou milieux de recueil de cellules sont disponibles, avec notamment la possibilité de rejeter un échantillon lorsque celui-ci n'est pas adéquat. Ainsi, notre CNR va intégrer un groupe de travail de l'HPV LabNet dirigé par C. Cocuzza (Université de Milan, Italie) et M. Poljac (Université de Ljubljana, Slovénie) pour étudier les exigences minimales pour les tests d'adéquation des échantillons. Il s'agira notamment de concevoir, produire et tester des échantillons artificiels mimant des prélèvements difficiles à analyser. À titre d'exemple, des échantillons ne contenant pas assez de cellules et que les tests de dépistage devraient classer comme non valides seront élaborés.

Évaluation de la reproductibilité intra- et interlaboratoire de nouvelles trousse de détection des HPV

Le CNR Papillomavirus reste mobilisé pour participer à l'évaluation de la reproductibilité intra- et interlaboratoire des nouvelles trousse de détection des HPV en vue de leur utilisation dans le cadre du dépistage primaire du cancer du col de l'utérus en collaboration avec le Pr Davy Vanden Broeck (laboratoire AML, Anvers, Belgique) et le Pr Marc Arbyn (Sciensano, Bruxelles, Belgique).

Sensibilité et spécificité de la charge virale HPV pour les lésions de haut grade (CIN2+)

La validation des trousse HPV pour le dépistage du cancer du col de l'utérus s'appuie aujourd'hui sur l'analyse de séries d'échantillons cliniques dûment qualifiés, permettant de répondre aux critères de Meijer. Au sein de l'HPV LabNet, notre objectif est de déterminer les charges virales minimales pour chaque type d'HPVhr permettant d'identifier des lésions de haut grade avec le meilleur rapport sensibilité/spécificité clinique. Une fois ces charges virales minimales définies, il sera possible de produire une série de standards de référence pouvant être utilisés par les industriels pour ajuster les seuils de détection de chaque HPVhr dans leurs trousse. Afin d'affiner et d'homogénéiser les données de quantification des HPV obtenues par centre de l'HPV LabNet à partir des 303 prélèvements adressés par le Centre International de Référence HPV (Stockholm, Suède), des dilutions de standards couvrant 10⁶ à 10 Unités Internationales des 12 HPV à haut risque nous ont été adressées. Ces dilutions de standards seront analysées par PCR en temps réel en triplicat, et les résultats, exprimés en Ct, seront transférés à nos collègues suédois chargés de l'analyse des résultats.

Comparaison inter-laboratoire de génotypage HPV et de détermination de la charge virale

Vingt-quatre laboratoires souhaitant participer à la comparaison inter-laboratoire ont été identifiés. Nous finaliserons la préparation des CIL qui seront au nombre de sept. Ces CIL seront préparés dans un milieu de cytologie liquide et composés de cellules HPV positive (HPV16 et HPV18) et HPV négative supplémentées ou non par des plasmides abritant les génomes complets de différents types d'HPV (HPV31, HPV33, HPV39, HPV51, HPV52, HPV56).

Au préalable, ces CIL seront testés en triplicat par nos soins :

- À l'aide de notre technique de dépistage des HPV haut risque de routine (Alinity m, Abbott) : ceci permettra une analyse qualitative (génotypage) et quantitative par l'évaluation des Ct fournisseur,
- À l'aide d'une technique de génotypage (analyse qualitative),
- À l'aide de PCR en temps réel ciblant les HPV haut risque (analyse quantitative),
- À l'aide de notre technique de PCR digitale pour les HPV16 et 18 (analyse quantitative).

Une fois qualifiés, les CIL seront envoyés aux laboratoires qui auront 2 mois pour nous renvoyer leurs résultats.

Pour rappel, les objectifs de cette comparaison inter-laboratoire sont :

- de vérifier la capacité des différentes techniques de dépistage à détecter des HPV HR (réponse qualitative, avec ou sans précision du(es) génotype(s) HPV détecté(s),
- d'évaluer, en particulier pour HPV16 et HPV18, la réponse quantitative par le biais du Ct fourni par la trousse commerciale (lorsque le Ct est disponible),
- d'évaluer une charge virale par PCR digitale (pour les laboratoires disposant de cette technologie).

Variant E2-336C>A [T310K] d'HPV16 comme biomarqueurs des lésions de haut grade

Dans un travail antérieur (Debernardi *et al.*, J Med Virol 2022), nous avons mis en évidence que le variant E2-336C>A [T310K] d'HPV16 était plus fréquemment détecté chez des femmes HPV16 positives qui ont évolué vers une lésion de haut grade que chez des femmes qui ont éliminé leur infection. Nous avons donc entrepris de caractériser ce variant sur le plan biologique et avons montré *in vitro* qu'il présentait un défaut de liaison sur les séquences de régulation E2BS (E2 binding site) présentes sur le promoteur d'HPV16. Ce variant présente donc probablement un défaut d'activité de répression de l'expression des oncogènes viraux E6 et E7, ce qui est cohérent avec le fait qu'il soit retrouvé chez des femmes évoluant vers des lésions de haut grade. Afin de confirmer cette hypothèse, nous souhaitons mettre au point des PCR en temps réel spécifiques de type afin d'étudier la répartition des deux variants dans une série de lésions de haut grade HPV16 positives (issue de l'étude IMPACT) et de frottis de femmes ayant éliminé leur infection (collection hospitalière COCOPAH). Si nous vérifions que le variant est sur-représenté dans les lésions de haut grade, il pourrait représenter un biomarqueur de progression d'une infection HPV16 vers une lésion de haut grade.

Réponse immunitaire précoce

Le pouvoir oncogène des différents HPV haut risque (HPVhr) varie selon le génotype impliqué. Pourtant, les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent ces différences de risque sont mal connus. L'une des hypothèses serait une meilleure reconnaissance de certains génotypes par le système immunitaire, à l'origine de leur élimination plus efficace. Comme pour tous les virus, la réponse immunitaire contre les HPV suppose une reconnaissance précoce et efficace du virus par des senseurs cellulaires. Or, certains HPV, en particulier HPV16 et HPV18, semblent échapper à la détection des motifs moléculaires pathogènes qui leur sont associés (Pathogen-associated molecular patterns, PAMP). Ainsi, la protéine E7 d'HPV18 inhibe l'action du système de sensing cytoplasmique cGAS-STING, et la protéine E6 d'HPV16 bloque l'action du facteur de transcription IRF-3 impliqué dans la stimulation de l'expression d'IFN- β .

Notre objectif est d'explorer l'impact des protéines E6 et E7 provenant de différents HPV à haut risque et à bas risque sur la détection du génome viral par différents systèmes de sensing cellulaire incluant les voies cGAS-STING-IRF-3-IFN- β et RIG-I-MAVS-IRF-3-IFN- β . À ce jour, différents modèles *in vitro* ont été mis au point par notre équipe, incluant plusieurs lignées cellulaires et/ou cellules primaires (U-2 OS, HeLa, PBMCs, C33-A), plusieurs modes de stimulation des voies de sensing [poly(I :c), poly(dA :dT)] et plusieurs témoins quantifiables d'activation de ces voies (IFN- β , gènes stimulés par les IFNs ; à la fois sous forme de transcrits et de protéines). Après avoir comparé les capacités de blocages de ces voies par les protéines E6 et E7 de différents génotype d'HPVhr, nous préciserons comment chaque génotype interagit avec ces voies. Ce travail permettra de mieux comprendre les mécanismes d'échappement associés aux différents HPV ainsi que les différences de prévalence et de pouvoir pathogène qui leur sont associés.

Perception des moyens de prévention contre HPV par les professionnels de santé et les patients

L'hésitation vaccinale, qu'elle survienne en population générale ou chez les professionnels de santé, est un frein majeur à l'augmentation de la couverture vaccinale contre les HPV en France. Notre équipe a précédemment évalué et caractérisé cette hésitation vaccinale chez les étudiants en santé (Lepiller Q, Vaccine, 2020) et chez les pharmaciens d'officine et étudiants en pharmacie (Dahe S, Infect Dis Now, 2024). Actuellement, nous développons un projet auprès des infirmier(e)s scolaires de la région Bourgogne-Franche-Comté visant à évaluer leurs perceptions autour de la vaccination anti-HPV en milieu scolaire. Ce projet nous permettra de mieux cibler les éventuels besoins de formation rencontrés par les infirmier(e)s scolaires et de développer des stratégies visant à limiter l'hésitation vaccinale chez les collégiens.

Notre équipe développe aussi un projet visant à évaluer le vécu des femmes confrontées à un test HPV positif lors du dépistage du cancer du col de l'utérus (y compris les représentations autour du risque de lésions (pré-)cancéreuses, l'information reçue de la part des professionnels de santé, l'information collectée par la patiente, la quantification du stress induit par le résultat). Ce projet pluridisciplinaire est mené en collaboration avec des biologistes, des gynécologues, des psychologues et des sociologues. Le questionnaire permettant le recueil des données est actuellement en cours d'élaboration. Il sera ensuite testé, validé puis diffusé après de la population cible de l'étude. Ce projet permettra, pour les professionnels de santé impliqués dans le dépistage du cancer du col de l'utérus, de mieux prendre en compte le vécu des femmes face à un test HPV positif, d'identifier leurs représentations et/ou leurs préjugés, leurs niveaux d'inquiétude et leurs principaux besoins en informations.

ACTIVITE DE CONSEIL

Le CNR Papillomavirus est à la disposition des professionnels de santé, des agences sanitaires, de la population pour répondre à toutes questions relatives aux infections par HPV, aux lésions associées et aux moyens de prévention.

Les enjeux de conseil actuels sont notamment :

- la mise à jour des trousse de détection des HPV utilisables pour le dépistage du cancer du col de l'utérus,
- le déploiement et l'utilisation des autoprélèvements vaginaux pour la détection des HPV,
- les modalités des prélèvements anaux et les techniques à utiliser pour le dépistage anal des HPV,
- l'âge à la vaccination qui pourrait être recommandée jusqu'à 26 ans,
- la mise à jour des recommandations du dépistage du cancer du col de l'utérus chez les femmes infectées par le VIH.

ACTIVITE DE SURVEILLANCE

Nos travaux de surveillance s'appuieront sur l'analyse de cohortes nationales déjà constituées, à partir de données obtenues dans le cadre du suivi de femmes dans notre structure hospitalière, à partir de cohortes prospectives ou encore par le suivi dans les eaux usées. Nous nous intéresserons aux sujets masculins et féminins représentatifs de la population générale et à des populations vulnérables et hautement exposées aux IST et notamment aux infections par HPV. Nous poursuivrons donc l'étude de la circulation des HPV en France, avec un focus particulier sur l'estimation de l'efficacité vaccinale dans notre pays.

Évaluation de l'efficacité vaccinale

Enquête nationale de prévalence des infections sexuellement transmissibles en France : PrévIST

L'ensemble des données de génotypage a été remonté à l'équipe de méthodologistes. La base de données une fois gelée sera analysée en collaboration avec Santé publique France qui est en charge des analyses statistiques. Les objectifs de cette étude sont :

- d'estimer la prévalence génitale des HPV chez les femmes vaccinées et non-vaccinées de 18 à 29 ans,
- de mesurer l'efficacité vaccinale vis-à-vis des HPV vaccinaux (6/11/16/18) selon l'âge à la vaccination et en tenant compte des comportements sexuels,
- d'estimer la prévalence génitale des HPV chez les hommes de 18 à 29 ans.

Distribution des HPV dans une population hospitalière de femmes vaccinées contre les HPV

Depuis 2018, les frottis de toutes les femmes réalisant un test de dépistage du cancer du col de l'utérus dans notre établissement et déclarant être vaccinées sont systématiquement utilisés pour réaliser un génotypage complet des HPV. Nous avons identifié, entre 2018 et 2024, plus de 550 femmes pour lesquelles nous disposons des données virologiques et cyto-histologiques. L'analyse des résultats obtenus l'an passé se poursuivra avec la rédaction d'un article scientifique.

Prévalence de l'infection aux papillomavirus humains (HPV) chez les jeunes femmes de 18-24 ans après la mise en place de la vaccination en France : une étude nichée dans la cohorte i-Predict

Ce projet vise à déterminer la prévalence des génotypes d'HPV vaccinaux et non vaccinaux dans une population de jeunes femmes en France non sélectionnées sur leur statut vaccinal ou leur risque d'exposition. Les démarches réglementaires pour utiliser les données socio-démographiques ainsi que les prélèvements sont toujours en cours.

Une fois les autorisations obtenues, nous utiliserons les échantillons résiduels d'environ 1000 auto-prélèvements obtenus à l'inclusion et actuellement conservés au CNR des IST à Bordeaux. La présence d'ADN d'HPV sera recherchée à l'aide de la trousse INNO-LiPA HPV Genotyping Extra II. La prévalence et l'intervalle de confiance à 95 % seront calculés pour les HPV16 et 18 (et tout autre HPV HR, notamment ceux inclus dans le vaccin nonavalent) chez les participantes vaccinées et non vaccinées. L'efficacité vaccinale contre les HPV16 et 18 sera ainsi calculée. Nous réaliserons aussi une régression logistique multivariée pour évaluer les caractéristiques associées à la détection d'HPV (âge au premier rapport sexuel, statut vaccinal HPV, statut IST, nombre de partenaires masculins, contraception, statut marital). Dans un second temps, nous analyserons les prélèvements de suivi de 500 participantes environ qui devraient être HPV négatives à l'inclusion pour étudier les cas incidents d'infection à HPV. Enfin, la dynamique de l'infection HPV (incidence en fonction des génotypes, infections multiples et charges virales) sera caractérisée.

Suivi de la circulation des HPV haut risque en population de dépistage et dans des populations vulnérables

Les études fourniront des données consolidées de la prévalence des infections par HPV haut risque en population de dépistage en France. Ces chiffres pourront à terme servir à préciser, par exemple, les évaluations de coût-efficacité du dépistage. Nous allons mener une étude à l'échelle de notre établissement de santé et une étude plus large, à l'échelle nationale en étroite collaboration avec Santé publique France. Par ailleurs, nous poursuivons l'étude conduite chez des hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes (HSH) sous prophylaxie préexposition de l'infection par le VIH (PrEP) afin de mieux caractériser les infections anales dans cette population vulnérable.

Détection des HPV dans une population hospitalière de dépistage du cancer du col de l'utérus

En France, le dépistage du cancer du col de l'utérus est organisé depuis 2019. Il consiste, pour les femmes âgées de 30 à 65 ans, en une recherche d'HPV haut risque tous les 5 ans à l'aide d'une trousse de détection des HPV haut risque validée dans cette indication. La prévalence de détection des HPV au niveau du col de l'utérus varie en fonction de l'âge et du pays. En 2010, une méta-analyse a fait état d'une prévalence mondiale des HPV de 11,7 % en l'absence d'anomalie cytologique, avec des différences significatives entre l'Afrique (21,1 %), l'Europe (14,2 %), les Amériques (11,5 %) et l'Asie (9,4 %). Le pic de prévalence a toujours été observé chez les femmes les plus jeunes (avant 25 ans), avec un rebond possible à des âges plus avancés (après 45 ans) dans certaines régions. Il existe à ce jour très peu de données françaises sur la prévalence des HPV dans des populations non sélectionnées. Dans ce travail, nous souhaitons déterminer la prévalence et la distribution des HPV haut risque en fonction de l'âge dans une cohorte hospitalière de femmes françaises âgées de 30 à 65 ans ayant eu un frottis dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus. Nous avons identifié, depuis 2019, environ 9 000 femmes ayant eu un premier frottis analysé à l'aide de la trousse de dépistage Alinity m détectant les HPV16, 18 et 45 individuellement, les HPV31, 33, 52 et 58 de façon simultanée (Groupe A) et les HPV 35, 39, 51, 56, 59, 66 et 66 de façon simultanée (Groupe B). Nous établirons ainsi une prévalence d'HPV haut risque en population de dépistage en fonction de l'âge. Nous intégrerons dans nos analyses le statut immunitaire des femmes, le statut vaccinal vis-à-vis des HPV lorsqu'il sera connu (donnée déclarative), et le traitement antérieur de lésions du col de l'utérus.

Partenariat avec Santé publique France : Projet 3 Labos

Le réseau 3 Labos repose sur la transmission automatique à Santé publique France de données anatomocytopathologiques et microbiologiques pour plusieurs agents pathogènes, dont les HPV, par les laboratoires Biomnis et Cerba. Les données recueillies incluent des éléments socio-démographiques (âge, département) et biologiques. En ce qui concerne les infections par HPV, nous souhaitons colliger les résultats de frottis cervico-utérins et des tests HPV. En fonction de la technique déployée dans les laboratoires nous disposerons aussi d'un génotypage partiel des HPV16 et HPV18 en plus des autres HPV haut risque. Ce projet, initié lors du précédent mandat, n'a pas été priorisé compte-tenu des conditions sanitaires liées à la Covid-19. Il reste néanmoins d'actualité. La réactivation de ce projet est à l'initiative de Santé publique France.

Dépistage de la colonisation anale par HPV chez les hommes usagers de PrEP : ANAPreP-HPV

Ce projet, mené en collaboration avec les infectiologues du CHU de Besançon sera poursuivi afin de caractériser au mieux l'infection anale par HPV chez les HSH sous prophylaxie pré-exposition de l'infection par le VIH (PrEP). Si l'infection par HPV est l'infection sexuellement transmissible (IST) la plus fréquente dans le monde, la population des HSH est particulièrement à risque d'acquisition d'un HPV au niveau anal, risque qui augmente avec le nombre de partenaires. Les nouvelles modalités de dépistage publiées en 2022 par la société nationale française de coloproctologie recommandent la recherche d'HPV16 comme test de première intention pour les populations à haut risque de cancer de l'anus. Le projet ANAPreP-HPV a été conçu suite à la mise en place du test HPV en dépistage primaire du cancer du col de l'utérus, procédure que nous avons appliquée chez les HSH usagers de la PrEP. Nous poursuivrons donc la recherche d'HPV au niveau anal avec une technique de dépistage, mais aussi de génotypage, pour évaluer la prévalence de l'infection. Les objectifs secondaires restent (i) d'évaluer les facteurs de risque liés à une infection par HPV à haut risque, (ii) de corrélérer l'infection par HPV (dont le génotype) à la cytologie anale et (iii) d'orienter les patients vers une consultation médicale proctologique en cas d'anomalie au frottis.

Analyse des HPV dans les eaux usées

L'identification et la quantification des HPV dans les eaux usées pourraient constituer un outil de surveillance de la circulation des HPV, notamment à l'ère vaccinale. Après avoir évalué la faisabilité de la détection du génome des HPV par différentes techniques moléculaires, il s'agit de mettre en place un système de surveillance global et en temps réel des HPV en circulation. Ce projet est porté par le Pr V Maréchal dans le cadre du réseau OBEPINE qui a démontré l'intérêt de ce type de suivi lors de la pandémie de COVID-19. Il s'agit en effet d'une approche de choix, complémentaire aux approches épidémiologiques basées sur la population, pour surveiller la dynamique des infections humaines.

Ce projet, intégré dans un programme plus large de surveillances des IST dans les eaux usées (cf.§7), permettra de construire un dispositif de suivi des HPV à travers l'analyse des eaux usées initialement sur trois zones géographiques (Guyane, Ile-de-France, Strasbourg), à deux échelles spatiales (Station de traitement des eaux usées et campus universitaires) et sur deux période (2024 et 2026). Les données obtenues seront confrontées aux données collectées auprès des populations à l'échelle nationale et locale.

Ce travail collaboratif impliquera :

- la mise en place de plans d'échantillonnage en Guyane (Institut Pasteur de Guyane), en Ile de France (Pr V. Maréchal), et dans la région de Strasbourg (Pr O. Rohr),
- la mise au point des techniques de typage et de quantification des HPV haut risque et la mise au point des marqueurs de normalisation des effluents (Pr V. Maréchal),
- la mise au point des techniques de détection des anticorps dans les eaux usées (Pr V. Maréchal, Pr A. Touzé),
- la conduite des analyses sur les échantillons d'eau usée (Pr V. Maréchal, Pr O. Rohr),
- l'analyse croisée des données issues des eaux usées et des données épidémiologiques nationales (Pr JL Prétet) et locales (L. Morand-Joubert).

ACTIVITE D'ALERTE

Tout évènement ou signal anormal sera notifié aux agences compétentes.

1. Annexe 1 : Missions & organisation du CNR

1.1 Missions du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Expertise

- en contribuant à l'évaluation des performances (sensibilité, spécificité) des méthodes de biologie moléculaire permettant le génotypage des papillomavirus oncogènes ou non, incluant les trousse commerciales ;
- en suivant les génotypes responsables des infections à l'origine de lésions précancéreuses ou cancéreuses du col de l'utérus ou d'autres cancers liés aux papillomavirus (autres cancers anogénitaux et cancers des voies aérodigestives supérieures HPV-induits) et tout particulièrement en identifiant l'émergence éventuelle de nouveaux génotypes ;
- en réalisant l'étude génétique des souches d'HPV en cas d'infection par un HPV inclus dans le vaccin chez les vaccinés (séquençage et analyse phylogénétique) dans le cadre d'étude ad-hoc ;
- en fournissant aux laboratoires réalisant des PCR HPV ou des techniques de génotypage des HPV une assistance technique et biologique permettant de garantir la qualité des résultats et en organisant un contrôle de qualité dans ce but ;
- en contribuant à la mise en place et à l'évaluation des techniques alternatives à la cytologie (recherche directe des HPV mise en place en 2020) dans le cadre du dépistage organisé du cancer du col de l'utérus et de l'évolution de la politique vaccinale ;
- en développant des outils virologiques permettant d'évaluer la sensibilité des virus HPV aux antiseptiques et désinfectants.

Conseil

- en contribuant à la définition et à l'évaluation des politiques de lutte contre les infections sexuellement transmissibles ainsi que contre les lésions précancéreuses et les cancers liés aux HPV, en particulier dans le cadre des groupes *ad hoc* d'expertise mis en place par les agences ou autorités sanitaires ;
- en apportant une expertise microbiologique pour l'évaluation des politiques vaccinales et de leur impact ;
- en assurant une activité de conseil auprès des professionnels de santé, cliniciens et biologistes et en contribuant aux actions de formation continue en direction des professionnels de santé sur les infections à papillomavirus, en particulier l'histoire naturelle de l'infection, son diagnostic et la signification des différents examens anatomo-pathologiques et virologiques.

Contribution à la surveillance épidémiologique, en lien avec l'agence nationale de santé publique

- en contribuant, en lien avec l'agence nationale de santé publique, à la mise en place d'un réseau représentatif de laboratoires pratiquant des examens virologiques (détection et génotypage des papillomavirus) dans le but de mettre en place une base de données nationale. Ces résultats seront accompagnés d'informations de nature épidémiologique ;
- en contribuant aux études épidémiologiques concernant les infections HPV et les lésions précancéreuses ou cancéreuses liées aux HPV chez les immunocompétents et les immunodéficients (infectés par le VIH, greffés) et les populations vulnérables ;
- en contribuant aux réseaux de surveillance des HPV internationaux, notamment européens ;
- en contribuant, en lien avec l'agence nationale de santé publique, au suivi du profil génotypique des HPV circulants chez les femmes et les hommes.

Contribution à l'alerte

- en signalant à l'agence nationale de santé publique tout phénomène inhabituel : apparition d'un nouveau génotype ou d'un génotype rare, augmentation de la fréquence de lésions précancéreuses ou cancéreuses liées à un génotype donné, etc.

1.2 Organisation du CNR et de ses éventuels laboratoires associés

Le CNR papillomavirus est une Unité Fonctionnelle (UF2508) intégrée au service « d'Oncobiologie, Génétique et Bio-informatique » du Laboratoire de Biologie Médicale du CHU de Besançon. Le CNR Papillomavirus a bénéficié jusqu'au 1 janvier 2024 d'un appui de l'équipe de recherche universitaire EA3181, « carcinogenèse associée aux HPV : facteurs prédictifs et pronostiques », de l'Université de Franche-Comté. Cette unité de recherche est impliquée depuis plus de vingt-cinq ans dans la recherche sur les infections à papillomavirus et les lésions associées a rejoint l'UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement. Par ailleurs, un hospitalo-universitaire et des praticiens hospitaliers émergeant dans le service de Virologie (Dr Q Lepiller, L Puget et S Marty-Quinternet) viennent renforcer l'encadrement scientifique et technique du CNR papillomavirus. Le Dr. L Puget est, en outre, à la fois titulaire d'un DES de dermatologie et d'un DES de biologie médicale, spécialisée en virologie.

La structure suivante, dont le responsable est le Pr JL Prétet, a été retenue :

- Le « **CNR Papillomavirus** » fait partie du pôle de Biologie / Anatomopathologie du CHU Besançon. Les plateaux techniques du Laboratoire de Biologie Médicale du CHU, notamment les laboratoires de l'UF7603 de Biologie Cellulaire et Moléculaire, le plateau de biologie moléculaire, les automates de virologie, les laboratoires de confinement de type L2 et L3 sont à la disposition du CNR HPV et de ses personnels.
- Le Pr Q Lepiller et le Pr JL Prétet ont intégré le 1^{er} janvier 2024 le Laboratoire Chrono-environnement (UMR CNRS 6249) dans lequel sont disponibles de nombreux outils de biologie moléculaire et cellulaire venant compléter ceux disponibles au CHU (culture cellulaire, mutagenèse dirigée, transfections, analyse des protéines entre autres).
- Un réseau de biologistes, de pathologistes et de cliniciens ayant manifesté leur intérêt à participer aux activités du CNR HPV lors de sa nomination à Besançon. Ces partenaires constituent un bon maillage territorial et assurent des activités en lien avec les maladies associées aux HPV. Ils ont donné leur accord de principe pour :
 - participer à la mise en place de contrôles de qualité,
 - participer aux études visant à la standardisation des techniques de génotypage,
 - fournir des informations d'ordre épidémiologique,
 - participer aux actions de communication et de formation.

État des emplois affectés au CNR

Fonction	ETP	Qualification	Statut	Organisme payeur
Responsable du CNR	0,3	PU-PH Biologie Cellulaire	Titulaire	UFC-CHU-SpF
Personnel Médical	0,1	PU-PH Virologie	Titulaire	UFC-CHU
Personnel Médical	0,05	MCU-PH Biologie Cellulaire	Contractuel	UFC-CHU
Personnel Médical	0,1	PH Virologie	Titulaire	CHU
Personnel Médical	0,1	PH Virologie	Titulaire	CHU
Faisant fonction d'ingénieure, Tech de labo	1	Thèse SVS	Titulaire	SpF
Technicien de recherche	1	BTS Biotechnologie	Contractuel	SpF
Adjoint administratif	0,1	Secrétariat	Titulaire	CHU-SpF

- Deux hospitalo-universitaires titulaires, un PU-PH de biologie Cellulaire (0,3 ETP), un PU-PH de virologie (0,1 ETP) et un MCU-PH de Biologie Cellulaire (0,05 ETP), et deux Praticiens Hospitaliers, (0,1 ETP chacun) ont en charge l'encadrement et le management des activités du CNR en lien avec les activités de dépistage des infections à HPV HR ainsi que les activités de développement et de transfert vers la routine de nouvelles techniques d'identification/caractérisation des HPV.
- Deux techniciens de laboratoire (dont une faisant fonction d'ingénieure car titulaire d'une thèse de science) représentant 2 ETP prennent en charge les techniques de détection des HPV, l'organisation logistique des études.

Du personnel paramédical de l'UF de Biologie Cellulaire et Moléculaire et du Plateau de Biologie Moléculaire complète efficacement l'effectif du CNR sur certaines activités en raison de compétences communes.

- Une conseillère scientifique, le Pr Christiane Mougin, assure une veille scientifique, une aide à la mise en place d'études, à la rédaction des dossiers et articles scientifiques. Elle participe activement à la communication scientifique et grand public sur la prévention primaire et secondaire des infections à HPV et lésions associées.
- Des cliniciens du CHU de Besançon, investis dans les pathologies associées aux HPV, infectiologue (Dr L Hustache Mathieu), dermatologue (Pr F Aubin), gynécologue (Pr R Ramanah), gastroentérologue (Pr L Vuitton), chirurgien ORL (Dr O Mauvais) sont des personnes ressources pour répondre aux questions relatives à leur spécialité.

1.3 Locaux et équipements

Locaux

Les activités de détection des HPV sont effectuées au sein de l'UF de Biologie Cellulaire et Moléculaire, de l'UF CNR Papillomavirus (locaux hospitaliers, CHU Jean Minjoz, PC-BIO), du Plateau commun de Biologie Moléculaire et dans les locaux universitaires de l'UMR Chrono-Environnement (UFR Sciences de la Santé, les Hauts du Chazal). Les locaux hospitaliers satisfont aux normes pour la manipulation des HPV et la réalisation des techniques de biologie moléculaire. Le plateau commun de biologie moléculaire dédié aux activités d'amplification (pièces de pré-PCR où s'effectuent les extractions d'acides nucléiques ; pièce pour les préparations de mix ; pièces des thermocycleurs ; pièce post-PCR où s'effectuent les manipulations des échantillons après amplification : gels d'électrophorèse, purification des produits amplifiés...). Le CNR dispose aussi d'une pièce hébergeant séquenceur, pyroséquenceur, et NGS. Les pièces à sas sont équipées de manomètres permettant de surveiller les pièces en sous ou surpression. Le nettoyage, l'entretien des locaux et l'élimination des déchets sont assurés par le CHU de Besançon.

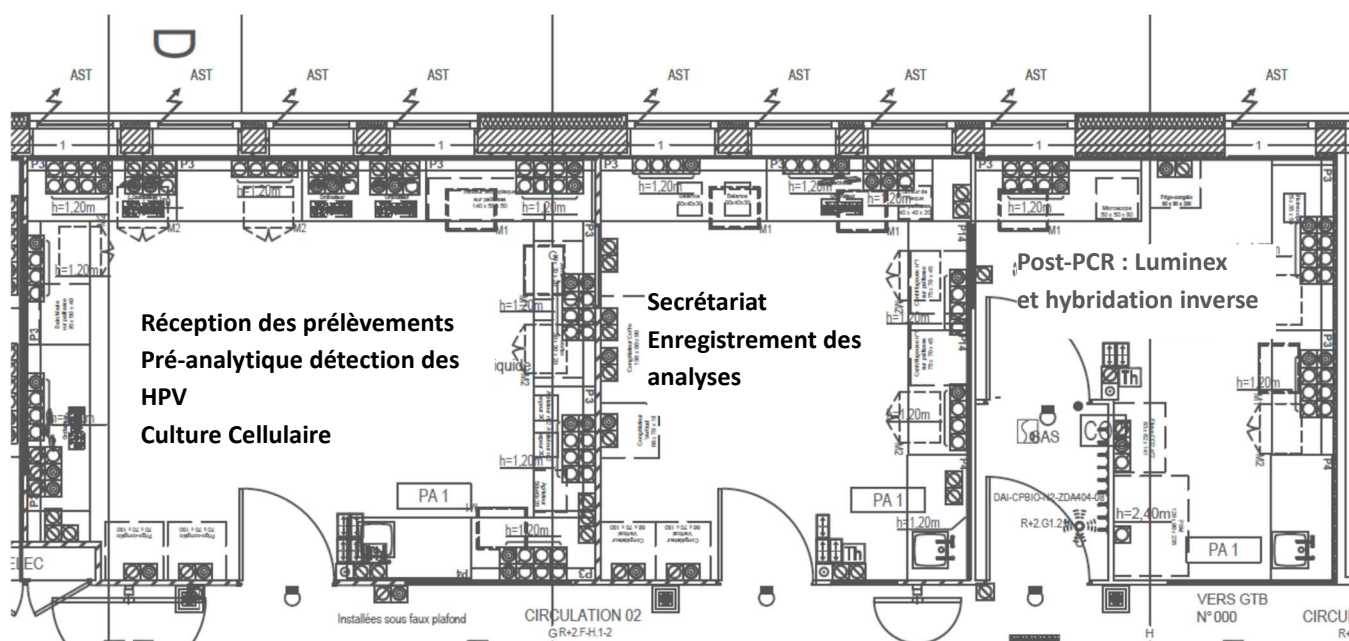


Figure 1. Plan des locaux de l'UF7603 et du CNR HPV (CHU de Besançon) : 100 m²

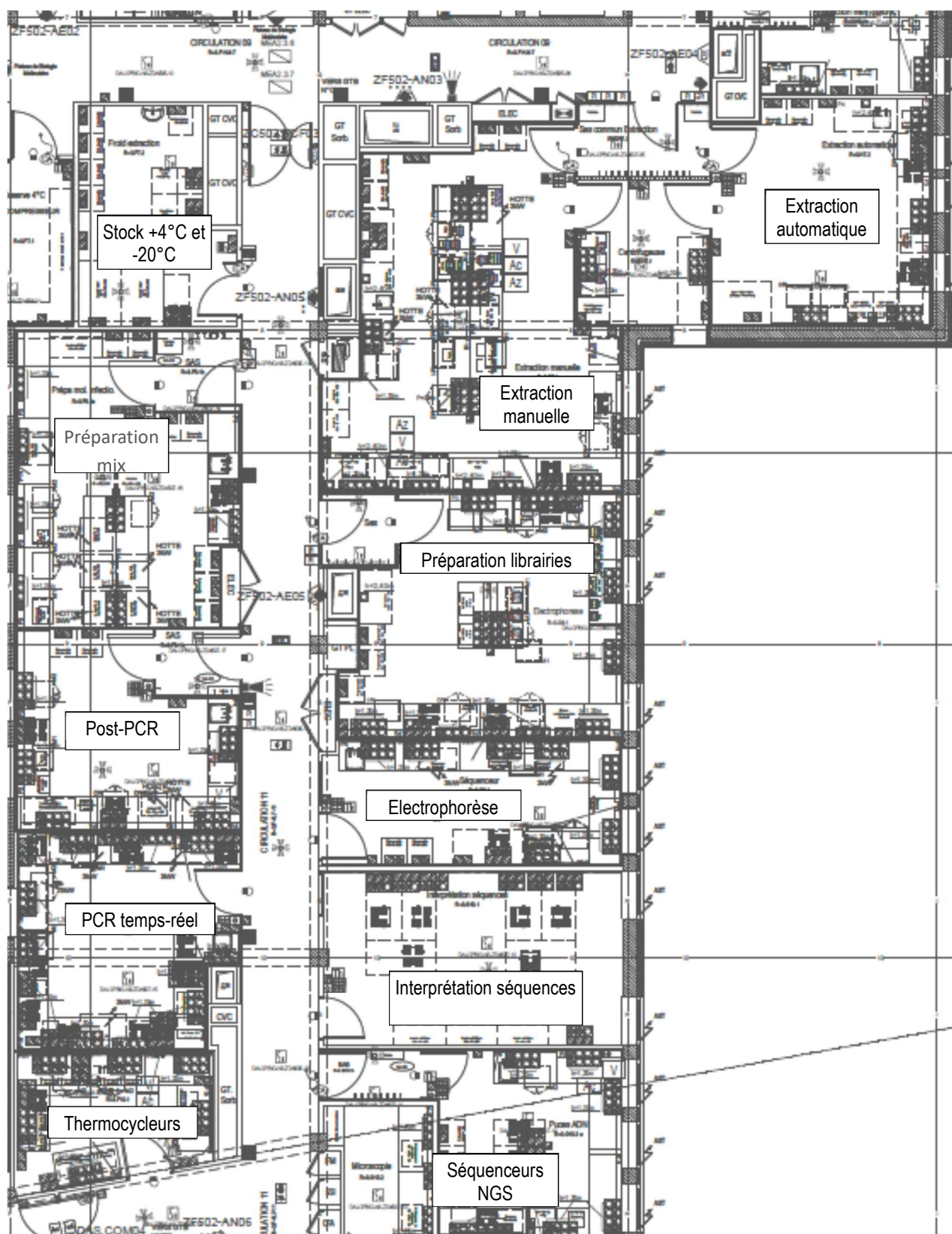


Figure 2. Plan des locaux du plateau commun de biologie moléculaire (CHU de Besançon) : 300 m²

Les locaux « recherche » de l'UMR Chrono-Environnement sont équipés pour la culture cellulaire, les techniques de biologie moléculaire qualitative et quantitative avec des zones dédiées (extraction d'acides nucléiques, PCR classique et en temps réel, séquençage, analyse des protéines). Ils sont à disposition pour le CNR.

Équipements

Le CNR a accès à de nombreux équipements hospitaliers et universitaires mutualisés. Les locaux hospitaliers et universitaires étant situés sur la même zone d'activité géographique TEMIS Santé, les différents types de matériel sont très facilement accessibles. La liste ci-dessous n'est pas exhaustive.

- Laboratoires de sécurité biologique de niveaux 2 et 3 (LSB2, LSB3) (CHU et Université)
- Postes de sécurité microbiologique de type II (CHU et université)
- Étuves CO₂ (CHU et Université)
- Étuves sèches (CHU)
- Microscopes - microscopes inversés (CHU et Université)
- Hottes dédiées à la préparation des mix de PCR (CHU et Université)
- Thermocycleurs classiques (CHU et Université)
- Thermocycleurs temps réel Applied Biosystems StepOne, Light Cycler 480, CFX Biorad (CHU et Université)
- Séquenceurs (CHU)
- NGS (CHU et Université)
- 2 automates pour l'hybridation inverse des bandelettes de génotypage (CHU)
- Cytomètre en flux pour technologie Luminex (CHU)
- Cuves électrophorèse - Générateurs - Analyseur de gels (CHU et Université)
- Spectrophotomètres (CHU et Université)
- Lecteur microplaque (CHU)
- Balances - Centrifugeuses - Vortex – Agitateurs – Bains-Marie - Réfrigérateurs - Congélateurs
- Congélateurs -80°C (CHU et Université)
- Station d'enrobage (accès au service d'anatomie et cytologie pathologiques)
- Microtome (CHU)

Moyens extérieurs à la structure / structures transversales

L'équipe bisontine est localisée sur un campus hospitalo-universitaire et a accès, à ce titre, à plusieurs structures :

Plateformes techniques de l'Université de Franche-Comté

Ces plateformes techniques dédiées à la recherche sont ouvertes aux équipes de l'UFC et aux utilisateurs extérieurs. Ces plateformes se composent, entre autres

- D'une animalerie qui peut accueillir des souris modifiées génétiquement
- D'une plateforme de séquençage et d'analyse de fragments
- De thermocycleurs en temps réel
- D'un cytomètre en flux trieur
- D'un microscope confocal
- D'une plateforme de bioinformatique (2B2S)

Structures hospitalières du CHU de Besançon

- Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques (Pr F Bibeau).
- Tumorothèque régionale de Franche-Comté à visée de recherche et sanitaire (Pr F Bibeau, F Monnier)
- Plateforme d'Oncobiologie (Pr JP Feugeas, Dr S Magnin)
- Registre des tumeurs du Doubs et du Territoire de Belfort (Dr AS Woronoff)
- Centre d'Investigation Clinique (Pr E Haffen)
- Unité de Méthodologie et de Qualité de Vie en Cancérologie (Pr V Westeel)
- Délégation à la Recherche Clinique et à l'Innovation (Pr MC Woronoff)

Structures Universitaires

Le CNR a accès aux différentes plateformes labellisées par l'Université de Franche-Comté : <https://www.univ-fcomte.fr/les-plateformes-technologiques#.YmgBSO3P2>

1.4 Collections de matériel biologique

- Lignées de cellules dérivées de cancer du col de l'utérus (HeLa, SiHa, Ca Ski, C-33 A, W12)
- Plasmides contenant le génome complet d'HPV16, HPV18, HPV31, HPV33, HPV45, HPV52, HPV58, HPV6, HPV11
- Plasmides contenant les gènes E6 et E7 d'HPV5, d'HPV8, d'HPV16, d'HPV24 et d'HPV38
- Plasmides contenant le gène E6 d'HPV5 et d'HPV8

- Plasmides contenant le gène E7 d'HPV5 et d'HPV8
- Collection de plus de 30 000 frottis de col de l'utérus issus du soin (collection COCOPAH déclarée au ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, n° enregistrement DC-2014-2086). (Cf. annexe 4)
- Collection des échantillons issus des expertises effectuées par le CNR papillomavirus. Ces échantillons sont stockés au sein du CRB filière microbiologique du CHU de Besançon (<https://www.chu-besancon.fr/la-recherche/les-acteurs-de-la-recherche-au-chu/centre-de-ressources-biologiques/centre-de-ressources-biologiques-filiere-microbiologique.html>) (Cf. annexe 4).

1.5 Démarche qualité du laboratoire

Le CNR Papillomavirus fait partie du Laboratoire de Biologie Médicale du CHU de Besançon qui est accrédité ISO15189 (accréditation n° 8-3294 ; https://www.cofrac.fr/fr/organismes/fiche.php?entite_id=82078058). La détection des HPV haut risque par la technique Alinity m high risk HPV assay est accréditée (portée A) ainsi que le génotypage et la quantification de la charge virale HPV (portée B).

Le laboratoire a participé au cours de l'année 2024 au contrôle de qualité externe d'Equalis : Global HPV DNA proficiency. Les EEQ ont été analysés par la technique INNO-LiPA extra II, Alinity m et Luminex. Le résultat de cet EEQ est conforme. Le laboratoire a participé au cours de l'année 2024 au contrôle de qualité externe du CTCB : test Alinitym HPV. Le résultat de cet EEQ est conforme.

2. Annexe 2 : Capacités techniques du CNR

Rappelez ici les informations suivantes (pour la plupart déjà disponibles dans votre dossier de candidature) en les mettant si nécessaire à jour :

2.1 Liste des techniques de référence

- Technique de détection des HPV HR Alinity m HR HPV Assay (Abbott) (accréditée)
- Technique de génotypage des HPV alpha HPV Genotyping Extra II INNO-LiPA (Fujirebio)
- Technique de génotypage des HPV bêta et gamma par PCR-LUMINEX
- PCR Digitale HPV16, HPV18
- PCR MY09-MY11, FAP59-FAP64
- PCR temps réel E2, E6, E5 d'HPV16, HPV18, HPV31, HPV33 et HPV45
- RT-PCR temps réel : transcrits E2, E6, E5 d'HPV16, HPV18, HPV31, HPV33 et HPV45
- Séquençage nouvelle génération par capture de 13 HPV HR
- Séquençage nouvelle génération par amplicon d'HPV16
- Hybridation in situ : détection d'HPV haut risque, d'HPV bas risque
- Western blotting, immunohisto/cytochimie (Détection de E6)

2.2 Liste des techniques recommandées par le CNR

La liste des troussees recommandées par le CNR pour le dépistage du cancer du col de l'utérus est publiée sur son site internet : <https://cnr-hpv.fr/wp-content/uploads/2023/03/Liste-des-troussees-de-detection-et-de-genotypage-des-HPV-validees-par-les-fabricants-de-milieux-v11.pdf>.

Ces troussees ont été validées selon les critères internationaux pour leurs performances cliniques permettant le dépistage des lésions précancéreuses et des cancers du col de l'utérus. Seules ces troussees doivent être utilisées dans cadre du dépistage.

- Abbott Alinity m HR HPV Amp Kit
- Abbott RealTime High Risk HPV
- AML, Riatol HPV genotyping qPCR assay
- BD Onclarity HPV Assay
- Cepheid Xpert HPV
- Genomica CLART HPV4S
- Hiantis, Srl OncoPredict HPV® SCR assay
- Hiantis, Srl OncoPredict HPV® QT assay
- Greiner BioOne Papillocheck
- Hologic Aptima HPV Assaya, b
- Qiagen Hybrid Capture test (HC2)
- Qiagen NeumoDX HPV Test Strip (N96 et N288)
- Roche Cobas 4800 HPV
- Roche Cobas HPV (sur les systèmes 5800/6800/8800)
- Seegene Anyplex II HPV HR
- Self-screen BV HPV-Risk assay / QIAScreen HPV PCR test
- Vitro S.A. HPV Screening test
- Euroimmun EUROArray HPV
- AB ANALITICA Realquality RQ-HPV Screen
- Seegene Allplex™ HPV HR Detection