

[Development of a bio-library in the cohort survey:
E3N-EPIC]

Catherine Guibout, Nicolas Prisse, Françoise Clavel-Chapelon

► **To cite this version:**

Catherine Guibout, Nicolas Prisse, Françoise Clavel-Chapelon. [Development of a bio-library in the cohort survey: E3N-EPIC]. *Epidemiology and Public Health / Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*, Elsevier Masson, 2003, 51 (1 Pt 2), pp.137-41. inserm-00158408

HAL Id: inserm-00158408

<https://www.hal.inserm.fr/inserm-00158408>

Submitted on 29 Jun 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Mise en place d'une biothèque dans l'enquête de cohorte : E3N-EPIC

Development of a bio-library in the cohort survey: E3N-EPIC

C. Guibout, N. Prisse, F. Clavel-Chapelon*

INSERM U 521, Institut Gustave-Roussy, 39, rue Camille-Desmoulins, 94805 Villejuif Cedex.

résumé

Les données provenant de banques d'échantillons biologiques sont un complément indispensable aux données épidémiologiques et actuellement la plupart des enquêtes de cohorte prévoient, dans leur protocole, la mise en place d'une telle banque. Toutefois, leur constitution soulève de nombreux problèmes logistiques. Cet article décrit l'expérience de chercheurs impliqués dans une enquête de cohorte actuellement en cours : l'étude E3N (Étude Épidémiologique de femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale). Il passe en revue les différentes contraintes auxquelles a été confrontée l'équipe, dans le cadre d'une recherche sans bénéfice individuel direct.

Mots-clés : Biothèque, Cohorte

abstract

Since data from biological material banks are now considered as complementary to epidemiological data, most cohort studies have now integrated them. However, their constitution raises numerous logistical problems. The present paper describes the experience of investigators of an on-going prospective study in France: the E3N study. It reviews several constraints that this team had to face, E3N being a study with no individual benefit for the volunteers.

Keywords: Bank of biological material, Cohort

Introduction

Les banques d'échantillons biologiques constituent de toute évidence un outil indispensable à la recherche biomédicale et épidémiologique. Au niveau international, la constitution d'une biothèque est de plus en plus souvent intégrée dans le protocole des enquêtes épidémiologiques prospectives. Une telle banque permet, en analysant des paramètres biochimiques et/ou génétiques, de rechercher la présence d'éventuels marqueurs biologiques de risque d'une pathologie donnée avant sa survenue. Une enquête de cohorte fournit un cadre optimal pour découvrir de tels marqueurs puisque le matériel biologique peut être recueilli à la constitution de la cohorte, donc avant l'apparition d'une pathologie ; les éventuelles différences observées ne seront donc généralement pas la conséquence de la maladie. De plus, l'approche prospective permet de tester de nouvelles hypothèses apparaissant au cours du suivi et de bénéficier des avancées scientifiques mais aussi techniques.

Constituer une biothèque dans le cadre d'une étude épidémiologique soulève de nombreuses difficultés et soumet les chercheurs à diverses contraintes techniques, logistiques, éthiques, juridiques et financières.

Cet article décrit les contraintes subies, les solutions mises en oeuvre et l'expérience acquise par les chercheurs impliqués dans l'enquête de cohorte E3N (Enquête Épidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale) actuellement en cours de réalisation^{1,2}. Recherche sans bénéfice individuel direct, l'étude E3N doit se conformer à la loi Huriet-Sérusclat.

L'étude E3N-EPIC

L'étude E3N a pour objectif de rechercher les facteurs de risque de cancer chez la femme. Elle est constituée de 100 000 femmes adhérentes à la MGEN, réparties sur tout le territoire français, âgées de 40 à 65 ans, en 1990, date de début de l'enquête. Six auto-questionnaires ont permis de recueillir des informations sur les facteurs de risque étudiés et l'état de santé des participantes. Cette population^{1,2} est composée de volontaires, intéressées par la santé publique et désireuses d'apporter leur concours à ce type de recherche. Elles sont en moyenne de statut socio-économique élevé. De ce fait, la population n'est pas représentative de la population féminine française : 80 % des femmes ont le baccalauréat et dans cette population, la pratique d'exams de dépistage est courante. Afin de compléter et de confirmer, par des données biologiques quantitatives, les

* Email : clavel@igr.fr

données épidémiologiques, une banque de matériel biologique composée des prélèvements de participantes volontaires a été constituée.

La banque biologique

Un protocole unique de recueil des échantillons a été défini dans le cadre de l'enquête EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and nutrition)³ dont E3N est la composante française. Cette enquête prospective européenne incluant plus de 450 000 volontaires réparties dans 10 pays vise à étudier la relation entre alimentation et cancer.

Diverses contraintes sont nées de cette appartenance à la cohorte européenne. Elles avaient trait à la quantité de sang à prélever et à son mode de recueil, aux conditions de traitement et de conservation du sang, à la préférence pour un prélèvement à jeun, enfin à la nécessité de conditionner et de congeler les fractions sanguines en paillettes (à - 80 °C), dans des délais inférieurs à 24 heures⁴.

Les contraintes imposées par la cohorte française elle-même étaient liées à la répartition des volontaires sur tout le territoire et à la durée de prêt des locaux par les différentes structures ayant collaboré. Nous avons généralement opté pour une invitation dans un lieu unique dans une seule ville par département. En raison de la complexité des démarches, de leur délai et de la lourdeur de la mise en place de l'accueil, seuls les départements dont l'effectif de population E3N était supérieur ou égal à 800 ont été sélectionnés. Les 45 départements choisis au départ représentaient 75 % de l'effectif de la cohorte.

Lieux de prélèvement

Puisque cette étude est une recherche sans bénéfice individuel direct (BID) c'est-à-dire que les participants n'en retirent aucun avantage pour leur santé, nous avons dû accueillir les volontaires dans des locaux répondant aux normes définies par la loi et titulaires d'une autorisation de lieu de recherche (⁴, et voir l'article d'A. Cambon-Thomsen). En pratique, nous avons sollicité comme lieux de recherche (de prélèvement dans notre cas) : hôpitaux, centres anti-cancéreux, centres d'examen de santé de la MGEN, de la Sécurité Sociale, établissements de transfusion sanguine, centres hospitaliers universitaires ou régionaux. Au total, 117 centres (ou services) situés dans 70 villes ont été contactés et 2 se sont spontanément proposés. Dans la majorité des départements, pour trouver un lieu d'accueil des volontaires, nous n'avons eu à contacter qu'une ou deux structures, mais pour 3 départements, plus de 7 contacts ont été nécessaires.

Compte tenu des refus de collaboration et des autorisations de lieu obtenues trop tardivement, nous avons pu ouvrir 35 centres d'accueil dans 35 villes de France. Le délai pour obtenir l'accord d'une structure dans un département a été de 1 à 24 mois (médiane = 7 mois).

Douze (10 %) des structures contactées détenaient déjà l'autorisation de lieu adéquate ou étaient titulaires d'une autorisation autre nécessitant une demande d'extension pour l'épidémiologie ; seules 8 d'entre elles ont pu collaborer. Pour les autres centres collaborateurs (n = 27), une demande d'autorisation de lieu de recherche a dû être déposée.

Demande d'autorisation et délais

L'autorisation de lieu est à demander à la Direction Régionale de l'Action Sanitaire et Sociale (DRASS). Elle entraîne une visite par le médecin inspecteur et la rédaction d'un rapport, examiné à la DGS. Ensuite, la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL) et le Comité Consultatif de Protection des Personnes se prêtant à des Recherches Biomédicales (CCPPRB) doivent être avisés de l'obtention de l'autorisation.

Au total, le délai médian entre l'envoi de la première lettre de demande de collaboration dans une ville sélectionnée et l'ouverture d'un centre d'accueil a été de 22 mois (minimum = 2, maximum = 36) et celui du temps de passage d'un dossier à la DGS supérieur à 4 mois (de 10 jours à 13 mois). Les délais d'ouverture d'un centre lorsqu'il s'agissait d'une structure « autorisée » (avec ou sans demande d'extension) se sont étalés de 3 à 21 mois (médiane = 6 mois). Un refus de transmettre la demande d'autorisation de lieu a été notifié lors de la visite des locaux par le médecin inspecteur à un centre souhaitant collaborer.

Modalités et stratégie d'invitation

Un courrier, suivi 3 à 4 semaines plus tard d'une éventuelle relance, a été envoyé aux participantes d'un département, les invitant à se rendre, après prise de rendez-vous et, selon leur choix, à jeun ou non, au centre de prélèvement généralement situé dans la préfecture du département. Au total, 67 567 lettres d'invitation ont été envoyées.

Taux de participation

Le taux de participation a été en moyenne de 38 % des femmes invitées, allant de 31 % pour le département du Nord à plus de 50 % pour 3 départements : la Marne, la Côte-d'Or et l'Ille-et-Vilaine. Dans les départements où une relance a pu être envoyée, la participation dépassait le plus souvent les 40 %. Celle-ci était d'autant plus élevée que le lieu d'accueil était plus central et donc moins éloigné de la résidence des personnes invitées.

Transport des échantillons

Après prélèvement, les échantillons sanguins (3 tubes de 10 ml : 2 citratés et 1 sec) étaient mis à l'abri de la lumière et conservés au réfrigérateur. Le transfert était effectué, en fin de journée, dans une boîte isotherme avec un conservateur de froid assurant le maintien d'une température d'environ + 4 °C pendant la durée du transport. Chronopost effectuait de nuit le transfert des échantillons vers le laboratoire central de l'étude E3N situé dans des locaux de la MGEN à Lyon.

Traitement des échantillons

Nous avons choisi l'option d'un laboratoire centralisé chargé de toutes les étapes conduisant à la congélation. Le sang était, à réception, séparé en ses différents constituants (sérum, plasma, couche leuco-plaquettaire et globules rouges) puis mis en paillettes ; les 28 paillettes de chaque volontaire étaient ensuite fractionnées en deux lots identiques et congelées à - 80 °C dans des visotubes (un par sujet) mis en gobelets (12 visotubes par gobelet). Le laboratoire se chargeait ensuite de faire parvenir les gobelets de paillettes congelées aux deux biothèques, par transport en carboglace. Les gobelets étaient ensuite rangés dans des canisters (6 gobelets par canister) stockés en azote liquide à - 196 °C, au Centre International de Recherches sur le Cancer (Lyon) et à la biothèque internationale CTS-Biomérieux (Annemasse).

La nécessité de conditionner les prélèvements dans les 24 heures était respectée par cette procédure.

Budget

Les différents postes de dépenses correspondent aux frais du matériel nécessaire à la prise de sang (tubes, aiguilles, petit matériel...), à la congélation (paillettes, visotubes, gobelets, canisters), au transport (boîtes isothermes et conservateur de froid), aux frais d'équipement (réfrigérateur, congélateur, centrifugeuse, machine à paillettes), aux frais de logistique (impression et envoi des courriers d'invitation, impression des fiches de renseignements et techniques), aux frais informatiques, aux frais de transfert des prélèvements et à ceux du personnel (secrétaires, infirmières et techniciens de laboratoire). Dans le cadre de l'étude E3N, le budget nécessaire a été approximativement de 38 E par prélèvement. À cela s'ajoutent les frais d'archivage des gobelets et du stockage des paillettes (approximativement 0,1 E/paillette/an). À quelques très rares exceptions près, les frais de déplacement n'ont pas été remboursés aux participantes qui n'ont pas non plus reçu d'indemnités.

Données recueillies

En plus du prélèvement sanguin, un certain nombre d'informations, pouvant interférer sur les dosages ultérieurs, ont été recueillies soit sur une fiche de renseignements papier soit sur une application informatique : statut ménopausique, tabagisme, prise de médicaments dans les dernières 24 heures... Nous avons aussi pris différentes mesures anthropométriques (poids, taille, taille assise, tours de taille et de hanches) et enregistré le pouls et la tension artérielle.

Caractéristiques des femmes volontaires

Nous avons comparé les caractéristiques des femmes invitées et ayant participé, à celles des femmes invitées et n'ayant pas participé. Le but de cette analyse, réalisée par régression logistique, était de déterminer les facteurs influençant la participation Tableau 1.

On observe que le célibat influence négativement la participation (OR = 0,80 [IC 95 % : 0,77-0,83]) alors qu'un niveau d'étude élevé l'influence positivement (OR = 1,14 [1,10-1,19]) (Bac+5 ou plus par rapport à Bac à Bac+4). Les participantes à la banque biologique sont plus soucieuses de leur santé, elles fument moins, pratiquent plus d'activité physique et se soumettent plus souvent à des examens de dépistage (mammographie, coloscopie, frottis cervico-vaginal). Les volontaires présentent aussi plus fréquemment un antécédent de cancer, quelle qu'en soit la localisation.

Tableau 1 **Analyse de certaines caractéristiques des femmes influençant leur participation à la banque biologique**

Caractéristiques des femmes	OR	IC 95%
Années de naissance		
1925-1929	1,35	[1,27 – 1,45]
1930-1934	1,51	[1,43 – 1,60]
1935-1939	1,54	[1,47 – 1,62]
1940-1944	1,37	[1,31 – 1,43]
1945-1950	1,00*	
BMI		
≤ 16	1,02	[0,76 – 1,37]
16 – 20	1,20	[1,15 – 1,25]
20 – 24	1,00*	-
24 – 28	1,15	[1,10 – 1,20]
> 28	1,07	[1,00 – 1,14]
Statut marital		
en couple	1,00*	-
célibataire (etc...)	0,80	[0,77 – 0,83]
Niveau d'études		
pas d'études – CAP	0,93	[0,87 – 0,99]
BEPC	1,06	[1,00 – 1,13]
BAC/BAC+4	1,00*	-
≥ BAC+5	1,14	[1,10 – 1,19]
Activité physique		
Marche : - peu ou pas	0,39	[0,37 – 0,41]
- 1 heure et +	1,00*	-
Sport : - peu ou pas	0,78	[0,76 – 0,81]
- 1 heure et +	1,00*	-
Tabac		
non fumeuse	1,00*	-
fumeuse	0,89	[0,84 – 0,94]
Examen de dépistage		
Mammographie : - jamais	0,67	[0,63 – 0,71]
- 1 fois ou +	1,00*	-
Coloscopie : - jamais	0,79	[0,76 – 0,82]
- 1 fois ou +	1,00*	-
Frottis : - jamais	0,69	[0,62 – 0,77]
- 1 fois ou +	1,00*	-
Cancer déclaré		
Sein : - oui	1,06	[0,95 – 1,18]
- non	1,00*	-
Tout : - oui	1,15	[1,06 – 1,26]
- non	1,00*	-

* Catégorie de référence

Discussion et conclusion

Malgré les problèmes rencontrés, dont la difficulté à trouver un lieu d'accueil, nous avons obtenu la participation globale que nous escomptions après les études de faisabilité : aux alentours de 40 %. Mais nous n'avons pas été en mesure d'inviter les 75 % de la cohorte souhaités dans les délais qui nous étaient impartis. En effet, les contraintes et obligations de la loi Huriet-Sérusclat et les délais nécessaires pour effectuer les démarches administratives en vue de l'obtention de l'autorisation de lieu ont ralenti notablement la mise en place des lieux d'accueil.

Les femmes participantes ont un profil particulier au sein de la cohorte. Il sera important de garder cette information à l'esprit lors de la discussion des résultats biologiques.

S'il est important que des banques de matériel biologique soient constituées en France, dans le cadre d'enquêtes de cohorte, leur réalisation demande la mise au point et le respect d'un protocole rigoureux. Les

conditions de conservation des prélèvements doivent être constantes et assurer la stabilité des échantillons. Les procédures d'archivage doivent être standardisées et en permettre une gestion efficace. Le respect des règles d'éthique (consentement, confidentialité, accès aux informations...) doit être total.

Un allègement des démarches nécessaires dans le cadre de telles recherches épidémiologiques sans BID serait plus que souhaitable d'autant que les éventuelles incidences sur la santé des volontaires ne peuvent être comparées à celles des essais thérapeutiques qui relèvent pourtant des mêmes exigences légales.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier toutes les volontaires, les différents acteurs de l'accueil des femmes dans les centres et les partenaires qui ont rendu possible la constitution de cette banque : la Communauté Européenne, la Ligue Nationale contre le Cancer et ses comités départementaux, la Société 3M, la Mutuelle Générale de l'Éducation Nationale, l'Institut Gustave-Roussy et le Conseil Général d'un certain nombre de départements. Nous voulons également remercier le Dr Agnès LAPLANCHE pour ses conseils et Laurent ORSI, Lyan HOANG et Valérie AVENEL pour la gestion et l'analyse des données.

Références

1. Clavel-Chapelon F, Jadand C, Goulard H, Guibout-Peigné C et l'équipe E3N. E3N, étude de cohorte sur les facteurs de risque de cancer auprès de femmes adhérentes de la MGEN. Bull Cancer 1996 ; 83 : 1008-13.
2. Clavel-Chapelon F, and the E3N group. E3N, a French cohort study on cancer risk factors. Eur J Cancer Prev 1997; 6: 473-8.
3. Riboli E. Nutrition and cancer: Background and rationale of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). Ann Oncol 1992; 3: 783-91.
4. Guibout-Peigné C, Prisse N, Clavel-Chapelon F. Une biothèque en France dans le cadre d'une étude épidémiologique. Exemple de l'étude E3N-EPIC. Ann Biol Clin 2002; 60: 293-8.