

[A biological bank in an epidemiologic study in France:
How? Example of the E3N-EPIC study]

Catherine Guibout-Peigné, Nicolas Prisse, Françoise Clavel-Chapelon

► To cite this version:

Catherine Guibout-Peigné, Nicolas Prisse, Françoise Clavel-Chapelon. [A biological bank in an epidemiologic study in France: How? Example of the E3N-EPIC study]. *Annales de Biologie Clinique*, John Libbey Eurotext, 2002, 60 (3), pp.293-8. inserm-00167222

HAL Id: inserm-00167222

<https://www.hal.inserm.fr/inserm-00167222>

Submitted on 17 Aug 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.

Une biothèque en France dans le cadre d'une étude épidémiologique : Comment ? Exemple de l'étude E3N-EPIC

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

Inserm U. 521, Institut Gustave-Roussy, 94805 Villejuif cedex.

Résumé : De nombreux problèmes se posent au chercheur souhaitant constituer une banque de matériel biologique dans le cadre d'une enquête épidémiologique, qu'elle soit réalisée avec ou sans bénéfice individuel direct tel que défini par la loi Huriet : problèmes administratifs et obligations légales, stratégie d'invitation, choix des structures d'accueil, transport et stockage des prélèvements. La première partie de l'article aborde ces différents aspects. Dans la seconde, sont rapportées les solutions adoptées dans le cadre d'une étude épidémiologique prospective, l'étude E3N-EPIC.

Mots-clés : Banque matériel biologique - Cohorte - Obligations légales - Réalisation.

La constitution d'une banque de matériel biologique (ou biothèque) est de plus en plus souvent prévue 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 prospective fournit un cadre optimal pour rechercher 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.

Nous exposons ici les principaux problèmes qui se posent au chercheur désireux de constituer une banque biologique dans le cadre d'une enquête épidémiologique et les solutions choisies pour optimiser le nombre et la qualité des prélèvements de volontaires, en prenant pour exemple l'étude E3N (Enquête épidémiologique auprès des femmes de la Mutuelle générale de l'Éducation nationale) [1], enquête pour laquelle une biothèque de 25 000 prélèvements a été constituée entre 1995 et 1998.

Problèmes liés à la mise en place d'une telle banque

Quelles autorisations obtenir ?

Cadre législatif

En France, la loi du 20 décembre 1988 [2] modifiée dite loi Huriet-Sérusclat, intégrée dans le Code de la santé publique (1^{re} partie, livre I, titre 2), a été promulguée pour protéger les personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales. Elle oblige le médecin à « informer les patients ou les volontaires sains de la recherche projetée, à leur en décrire les bénéfices attendus, les contraintes et les risques prévisibles, et à recueillir leur accord avant toute investigation ». La recherche doit être scientifiquement justifiée, et sans risque pour les volontaires.

La loi du 1^{er} juillet 1998 [3] oblige toute équipe à une déclaration, auprès du ministre chargé de la recherche, de toute banque de matériel humain (tissus ou cellules), que celui-ci soit transformé ou non. Le ministre peut s'opposer, dans un délai de trois mois, à l'activité déclarée. À ce jour (juillet 2001), les décrets d'application de cette loi ne sont pas parus.

Type de recherche biomédicale

La loi en distingue deux types selon que les personnes qui s'y prêtent en retirent (ou non) un bénéfice direct pour leur santé : on dira alors que la recherche est avec (ou sans) bénéfice individuel direct. Cette distinction a des conséquences pour les autorisations à détenir et les démarches à entreprendre.

Obligations légales

La loi distingue le promoteur et l'investigateur.

Le promoteur, personne physique ou morale, prend l'initiative de la recherche biomédicale et doit se couvrir vis-à-vis d'éventuels dommages survenant aux participants en souscrivant une assurance responsabilité civile pour lui et tout intervenant. Il assume « l'indemnisation des conséquences dommageables de la recherche pour la personne qui s'y prête » et ce, même sans faute de sa part, pour les recherches sans bénéfice individuel direct.

L'investigateur, docteur en médecine, dirige et surveille la réalisation de la recherche. Que celle-ci soit avec ou sans bénéfice individuel direct, il s'engage également à recueillir, par écrit, le consentement libre et éclairé des volontaires participant. Ceux-ci seront informés des moyens de communication des résultats (les données à caractère médical ne pouvant être transmises que *via* un médecin désigné par le sujet), de la durée prévue de conservation des prélèvements et, à leur demande, de leur destruction possible. Si des recherches sur l'ADN sont programmées, celles-ci seront mentionnées dans la fiche de consentement.

La recherche ne donne lieu à aucune contrepartie financière excepté le remboursement de frais engagés et, dans le cadre d'une recherche sans bénéfice individuel direct, de possibles indemnités individuelles, compensant les contraintes subies, dont le cumul est plafonné par le ministère (25 000 F/an).

L'investigateur doit toujours soumettre son projet de recherche à l'avis du ou d'un des comités consultatifs de protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales (CCPPRB) de sa région. Le promoteur doit transmettre, au ministère chargé de la santé, l'avis du CCPPRB sur le projet accompagné d'une lettre d'intention, du titre et de l'objectif de la recherche, ainsi que le nom de l'assureur et le numéro du contrat d'assurance, et la liste des lieux où se déroulera la recherche. Cet avis et le protocole dans le cadre duquel le traitement informatique de données nominatives est mis en œuvre seront également transmis à la commission nationale de l'informatique et des libertés (CNIL).

Pour les recherches sans bénéfice individuel direct, les contraintes sont plus importantes. En effet, elles ne peuvent être réalisées que sur des individus bénéficiaires d'un régime de sécurité sociale, ne doivent présenter « aucun risque prévisible sérieux pour les personnes qui s'y prêtent » et être précédées d'un examen médical des volontaires ; la participation de certaines catégories de sujets (les mineurs, les majeurs sous tutelle, les personnes séjournant dans un établissement sanitaire ou social, les malades en situation d'urgence) est soumise à des conditions particulières. De plus, un sujet ne peut participer qu'à une seule étude sans bénéfice individuel direct à la fois et sa participation à un autre projet de recherche ne peut advenir qu'à l'expiration du délai d'exclusion lié à la recherche initiale et variable selon sa nature. Le cumul d'indemnités et les périodes d'exclusion sont centralisés sur le fichier national des personnes se prêtant à des recherches biomédicales sans bénéfice individuel direct de la direction générale de la santé (ministère de l'Emploi et de la Solidarité) auquel, par une procédure sécurisée, ont accès les investigateurs de telles recherches. Ces derniers doivent y inscrire tout participant.

Dans le cadre de recherches avec bénéfice individuel direct, la loi ne définit pas de structure particulière pour l'accueil des volontaires ; en revanche, dans celui d'une recherche sans bénéfice individuel direct, les locaux doivent être équipés en moyens matériels et techniques adaptés à la recherche et compatibles avec les impératifs de sécurité pour les sujets. L'intervention éventuelle d'un service d'urgence proche doit être prévue. Une autorisation de lieu de recherche, délivrée par la direction générale de la santé (DGS), doit être obtenue par demande adressée à la Drass accompagnée d'un descriptif des locaux et de l'accord d'intervention du Samu. Cette autorisation est délivrée sans limitation de temps pourvu qu'aucun changement n'intervienne ; dans le cadre des essais cliniques, c'est l'Afssaps (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé) qui la signe et celle-ci peut être étendue à des domaines de recherche relevant de la DGS, par exemple l'épidémiologie. Pour un hôpital, l'autorisation de lieu est à demander par service.

En cas de changement du titulaire de l'autorisation ou de modifications dans la nature des recherches, une déclaration doit être adressée au préfet dans les mêmes conditions que la demande initiale d'autorisation de lieu. De même, toute modification du projet affectant le but de la recherche initiale doit faire l'objet, auprès du CCPPRB, d'une demande d'avis complémentaire.

Quelles étapes et quel délai pour leur obtention ?

Une fois obtenue, l'autorisation de lieu doit être envoyée au CCPPRB pour avis puis à la CNIL et à la DGS. Dès que la lettre d'intention émanant du ministère est reçue par le centre d'accueil, la recherche

peut commencer. La *figure 1* présente le schéma de ces différentes étapes de l'obtention et leurs délais respectifs observés dans l'étude E3N.

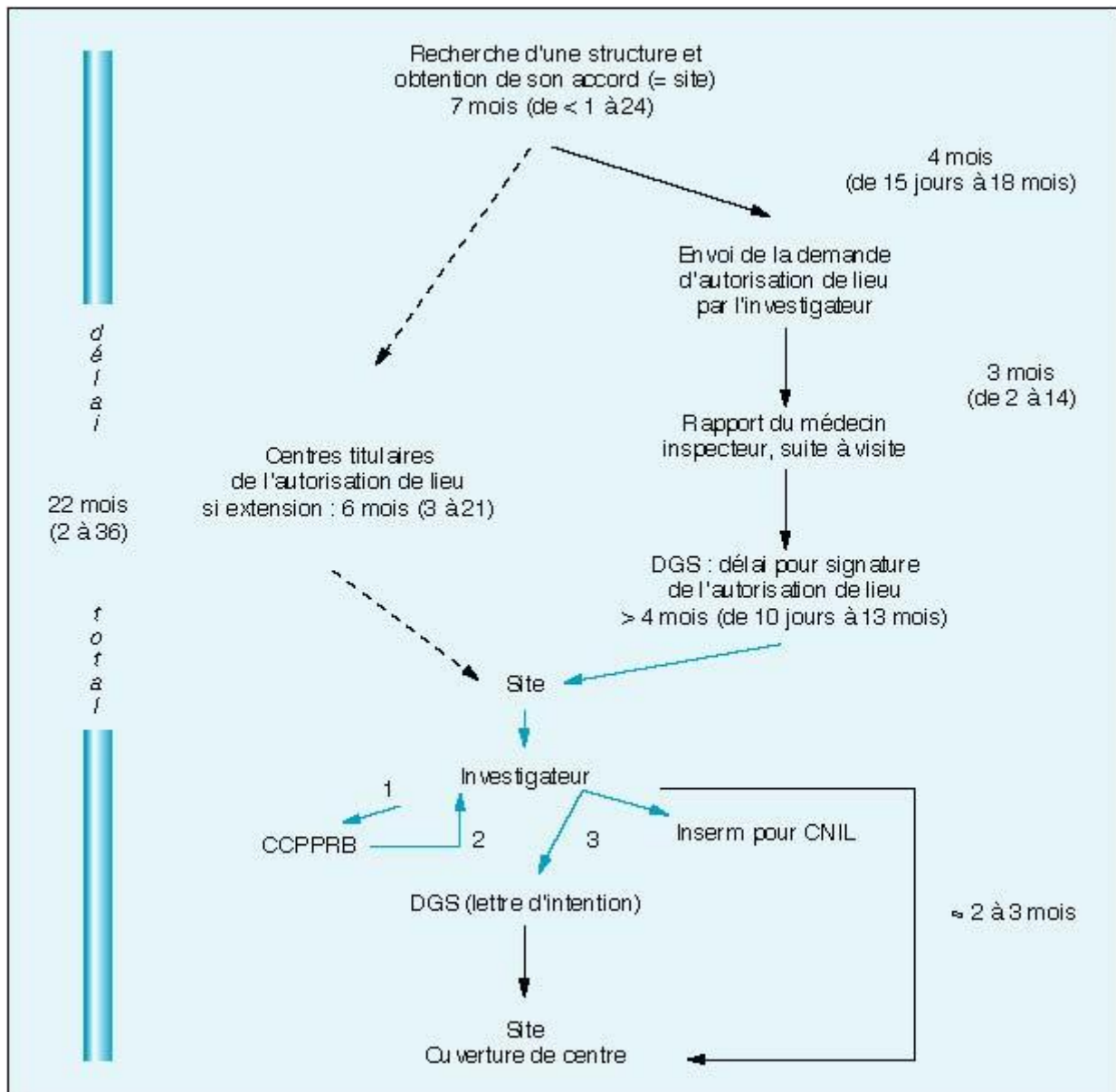


Figure 1. Schéma des différentes étapes nécessaires à l'ouverture d'un site d'accueil et médianes (extrêmes) des délais observés pour E3N.

- Circuit pour les centres sans autorisation de lieu
- > Circuit pour les centres avec autorisation de lieu
- Circuit spécifique de l'autorisation de lieu

Quelle stratégie adopter pour solliciter des sujets en vue de constituer une banque de matériel biologique ? Où les inviter ?

La stratégie de prélèvement, celui-ci pouvant être effectué à l'inclusion des sujets ou à distance de celle-ci, est fonction de la nécessité de prélever à jeun ou non, du délai maximum et des conditions optimales de conservation entre le prélèvement et son traitement, du nombre de prélèvements que le laboratoire est en mesure de traiter quotidiennement, de la possibilité de trouver des structures intéressées par une telle collaboration et de la répartition géographique des sujets.

Si la population est localisée autour d'un grand centre, un seul lieu suffit pour l'accueil ; en cas de dispersion plus importante, plusieurs lieux ou une structure mobile se déplaçant de ville en ville

peuvent permettre d'alléger les problèmes logistiques liés à la multiplicité des sites de prélèvement tout en facilitant la participation des volontaires.

Où traiter les prélèvements et comment les acheminer, si nécessaire, vers leur lieu de conservation dans des conditions optimales ?

Dans tous les cas de recherche, avec ou sans bénéfice individuel direct, les échantillons doivent être recueillis et stockés « dans des conditions optimales de conservation, sécurité et confidentialité ». Les prélèvements seront traités et fractionnés - selon leur nature (sang, cheveux, ongles, urine, tissu adipeux...) - en un nombre maximum d'aliquotes en vue d'un stockage en petits échantillons. Le suivi de l'identification d'un prélèvement est bien évidemment essentiel et ce, du recueil au stockage. Au sein d'une équipe, seules les personnes habilitées peuvent accéder à tous les types de données.

Le choix du matériel et de la température de stockage seront définis en fonction du matériel biologique à conserver, du temps prévu de conservation et des analyses projetées.

Le délai entre le recueil du matériel et sa mise en conservation sera réduit au maximum. Un laboratoire unique pour réceptionner, traiter, conditionner et congeler tous les prélèvements permet que ceux-ci soient traités rapidement dans des conditions que l'on peut considérer comme strictement identiques pourvu qu'une procédure standardisée ait été établie. Si l'on dispose de plusieurs laboratoires, il faut veiller à ce qu'une standardisation rigoureuse soit établie à partir d'un protocole précis tant pour le traitement des échantillons que pour leur archivage.

Les conditions de transport doivent garantir une stabilité de la température choisie durant tout l'acheminement. Une boîte isotherme contenant un conservateur de froid peut être nécessaire. Le matériel congelé à -130°C ou en deçà est plus difficile et plus dangereux à acheminer du fait de la volatilité de l'azote liquide ; néanmoins, il existe des containers à fermeture sécurisée permettant un tel transport.

Stockage des prélèvements

Les conditions de température pour la conservation des prélèvements sont bien sûr différentes selon la nature biologique de ceux-ci. Dans tous les cas, il faudra s'assurer de la stabilité de la température choisie et de celle des constituants des échantillons stockés.

Le logiciel de gestion devra prendre en compte entrées et sorties des prélèvements et permettre l'enregistrement de la destination de chaque aliquote utilisée. Celui-ci devra répondre à tous les impératifs de sécurité et de confidentialité requis par la loi.

Exemple de l'étude E3N-EPIC

La cohorte prospective E3N, initiée pour rechercher les facteurs de risque de cancer chez la femme [1, 4], est constituée de 100 000 femmes adhérentes à la MGEN, réparties sur tout le territoire français et âgées de 40 à 65 ans au début de l'enquête en 1990. Depuis le début, celles-ci répondent régulièrement à des auto-questionnaires sur des données anthropométriques, gynécologiques, thérapeutiques ainsi que sur leur mode de vie et leurs antécédents médicaux personnels et familiaux ; chaque questionnaire comporte un suivi de l'état de santé des participantes. Parallèlement au recueil de données épidémiologiques, une banque de matériel biologique a été constituée à partir du plus grand nombre possible de prélèvements de sang périphérique des volontaires.

L'étude E3N est la constituante française de l'enquête EPIC (*European prospective investigation into cancer and nutrition*) [5], enquête prospective européenne incluant plus de 450 000 volontaires répartis dans dix pays qui vise à étudier la relation entre alimentation et cancer. Son protocole prévoyait la constitution d'une banque de matériel biologique.

Une procédure unique de prélèvements d'échantillons sanguins a été définie, standardisant la quantité de sang à prélever (30 mL), le mode de recueil (tubes secs et citratés mis à l'abri de la lumière et conservés à + 4 °C jusqu'à leur centrifugation), le choix de l'anticoagulant (citrate), les conditions de traitement (séparation du sang en plasma, sérum, globules rouges et couche leucoplaquettaire), de conditionnement (en paillettes de 500 µL) et de conservation du sang (- 80 °C puis - 196 °C). De plus, il était demandé de conditionner et de congeler les fractions sanguines dans des délais inférieurs à 24 heures. Un prélèvement à jeun était souhaité.

L'étude E3N présentait des contraintes supplémentaires : les volontaires étaient réparties sur tout le territoire et les locaux, prêtés par les différentes structures nous accueillant, ne pouvaient être à notre disposition que pour un temps limité.

Vu ces conditions, nous avons opté pour une invitation dans un lieu unique dans une seule ville par département. Les départements choisis (45, représentant 75 % de l'effectif de la cohorte) ont été sélectionnés en fonction de l'effectif de leur population E3N (≥ 800).

Lieux de recherche

L'étude E3N étant une recherche sans bénéfice individuel direct, nous devions accueillir les volontaires dans des locaux répondant aux normes définies par la loi Huriet-Sérulscat [2]. En pratique, nous avons sollicité comme lieux de recherche (de prélèvement dans notre cas) possibles : les établissements de transfusion sanguine, les centres médicaux de la MGEN, les centres anticancéreux, les centres hospitaliers universitaires ou régionaux, les centres d'investigation clinique, les centres d'exams de santé de la Sécurité sociale, les centres de prévention de conseil général. Au total, 117 centres (ou services) situés dans 70 villes ont été contactés et 2 se sont spontanément proposés. Pour la majorité des départements (25), une à deux structures ont été sollicitées ; cependant, ce nombre s'est élevé à 9 pour 2 départements. Le délai pour obtenir l'accord d'une structure dans un département s'est étalé de 1 à 24 mois (médiane = 7 mois).

Douze des structures contactées (soit 10 %) détenaient déjà l'autorisation de lieu adéquate ou ne devaient obtenir qu'une extension ; mais nous n'avons pu ouvrir de centre d'accueil que dans huit d'entre elles. Tous les autres centres collaborateurs (27) ont dû déposer, auprès de la Drass, une demande d'autorisation de lieu de recherche. Un seul refus d'une telle autorisation fut notifié lors de la visite des locaux par le médecin inspecteur de la Drass.

Finalement, compte tenu des refus de collaboration et autorisations de lieu obtenues trop tardivement, nous avons ouvert 35 centres d'accueil dans 35 villes de France.

Délai

La *figure 1* précise les délais des différentes étapes préalables à l'ouverture d'un centre d'accueil. 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 (de 2 à 36). Ce délai d'ouverture lorsqu'il s'agissait d'une structure « autorisée » (avec ou sans demande d'extension) fut de 6 mois (de 3 à 21 mois).

Constitution de la banque

Les femmes ont été invitées par courrier (avec relance si nécessaire) à prendre rendez-vous auprès du secrétariat du centre ouvert dans leur département. Plus de 25 000 volontaires acceptèrent de se déplacer. Le taux de participation fut en moyenne de 38 % des femmes invitées, allant de 32 % pour le département du Nord à 53 % pour la Côte-d'Or, la participation étant d'autant plus élevée que le lieu d'accueil était plus central.

Après prélèvement, les échantillons sanguins étaient transférés de nuit, par Chronopost, dans une boîte isotherme à +4°C, vers le laboratoire central. En effet, nous avons choisi l'option d'un laboratoire centralisé chargé de toutes les étapes conduisant à la congélation. Celui-ci se chargeait ensuite de faire parvenir les paillettes congelées aux deux biothèques où ils sont stockés en azote liquide à -196°C : le centre international de recherche sur le cancer à Lyon et la biothèque internationale d'Annemasse (Établissement français du sang-Rhône-Alpes).

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

Discussion

Il est important que des banques de matériel biologique soient constituées en France, dans le cadre d'enquêtes de cohorte permettant l'étude parallèle de données épidémiologiques et/ou médicales et de données biologiques mesurées et objectives. La réalisation de telles banques demande la mise au point et le respect d'un protocole rigoureux et détaillé. Les conditions de conservation doivent être constantes et assurer la stabilité des échantillons. Les procédures d'archivage doivent être standardisées et en permettre une gestion efficace et aussi simple que possible. Le respect des règles d'éthique (consentement, confidentialité, accès aux informations...) doit être total.

Cependant, lorsqu'il s'agit d'une recherche sans bénéficiaire individuel direct, les contraintes et obligations de la loi et les délais nécessaires pour effectuer les démarches administratives peuvent ralentir, parfois sensiblement, la mise en route du recueil des échantillons. Un allègement des démarches, tout du moins en ce qui concerne les recherches épidémiologiques, serait très souhaitable d'autant qu'un prélèvement sanguin et la prise de quelques mesures ne peuvent avoir les mêmes conséquences sur la santé des individus que les essais thérapeutiques qui sont soumis aux mêmes contraintes légales.

Remerciements.

Nous tenons à remercier, pour leur soutien financier, les partenaires de l'équipe E3N : 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 sommes particulièrement reconnaissants aux directeurs, médecins, infirmières, administratifs et tous les personnels des lieux d'accueil qui ont accepté de collaborer avec nous et de nous aider sur ce projet. Nous remercions également les techniciens du laboratoire, le Dr Agnès Laplanche pour ses critiques constructives, le Dr Corinne Jadand pour sa contribution et Ly An Hoang pour son aide. Enfin pour les femmes volontaires, un grand merci !

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. Loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 (Journal officiel du 22 décembre 1988, n° 298, p. 16.032 à 16.035) relative à la protection des personnes se prêtant à des recherches biomédicales, intégrée au code de la santé publique 1^{re} partie, livre I, titre 2, articles L1121-1 à L1126-7.
3. Loi n° 98-535 du 1^{er} juillet 1998, article 19 (Journal officiel du 2 juillet 1998, n° 151, p 10.056 à 10.075) relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme.
4. Clavel-Chapelon F, the E3N group (van Liere MJ, Guibout C, Niravong MY, *et al.*). E3N, a french cohort study on cancer risk factors. *Eur J Cancer Prev* 1997 ; 6 : 473-8.
5. Riboli E. Nutrition and cancer: background and rationale of the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Ann Oncol* 1992 ; 3 : 783-91.