

TRAVAIL DE FIN D'ÉTUDE

Le dépistage du cancer du col de l'utérus par auto-prélèvement urinaire est-il pertinent pour les patientes sous-dépistées ?

Réalisation du protocole d'une étude interventionnelle évaluant l'impact de l'auto-prélèvement urinaire sur la participation au dépistage et analyse transversale des facteurs de risque d'une population bruxelloise sous-dépistée.

Rédigé par : Laura Prud'homme

Promoteur : Guy Beuken

Année académique 2020-2021
Master de spécialisation en médecine générale

Université catholique de Louvain – Faculté de médecine

Table des matières

RESUME	2
MOTS CLEFS	3
INDEXATION.....	3
REMERCIEMENTS	4
LISTE DES ABREVIATIONS	5
1. INTRODUCTION.....	6
2. MISE EN CONTEXTE	8
3. REVUE DE LA LITTERATURE	13
3.1. DESCRIPTION DE LA RECHERCHE DE LITTERATURE	13
3.2. ETAT DES CONNAISSANCES	15
3.2.1. <i>Le test HPV : comparaison avec le Pap-test</i>	15
a) Les technologies moléculaires utilisées lors de l'analyse du test HPV :	17
b) Un intervalle augmenté entre les tests primaires de dépistage :	19
c) Une stratégie de triage des femmes testées positives au test HPV adaptée :	19
d) L'effet protecteur du test HPV :	20
3.2.2. <i>L'auto-prélèvement : sa place au sein d'une politique de dépistage</i>	21
3.2.3. <i>Le prélèvement urinaire : une nouvelle méthode d'auto-prélèvement</i>	24
4. METHODE	26
4.1. LA QUESTION DE RECHERCHE ET RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE	26
4.2. CARACTERISTIQUES DE L'ETUDE.....	26
4.3. OBJECTIFS DE L'ETUDE ET HYPOTHESES	27
4.4. METHODE D'INVESTIGATION	30
4.4.1. <i>La durée de l'étude</i>	31
4.4.2. <i>Focus sur la participation</i>	32
4.4.3. <i>Focus sur le bras expérimental</i>	32
a) Gestion des échantillons d'auto-prélèvement.....	32
b) Recueil et gestion des résultats des auto-prélèvements	33
4.4.4. <i>Focus sur le bras contrôle</i>	34
a) Gestion des frottis cervico-vaginaux prélevés au cabinet.....	34
b) Recueil des résultats des frottis cervico-vaginaux	34
4.4.5. <i>Focus sur le questionnaire</i>	34
4.5. LA POPULATION ETUDIEE	35
4.5.1. <i>Les critères d'inclusion</i>	35
4.5.2. <i>Les critères d'exclusion</i>	36
4.5.3. <i>La taille de l'échantillon</i>	36
4.6. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS	37
4.7. PRECAUTIONS ETHIQUES PRISES	37
4.8. CONFLITS D'INTERET	39
5. RESULTATS	40
6. DISCUSSION	42
6.1. VALIDITE DE L'ETUDE : JUSTIFICATION DE LA METHODE CHOISIE	42
6.2. BIAIS DE L'ETUDE : CRITIQUE DE LA METHODE CHOISIE	44
7. CONCLUSION.....	46
8. BIBLIOGRAPHIE	49

Résumé

Introduction : Les programmes de dépistage par Pap-test implémentés actuellement semblent atteindre leurs limites et ont un effet protecteur insuffisant sur les populations de femmes à haut risque de cancer du col de l'utérus (CCU). En parallèle, du fait de sa meilleure efficacité, le test HPV est présent au cœur des nouvelles recommandations européennes pour le dépistage du CCU. Les possibilités d'auto-prélèvements urinaires et vaginaux qu'il offre ne le rendent que plus intéressant. L'efficacité de l'auto-prélèvement urinaire a fait l'objet de controverses au sein de la littérature scientifique. Récemment cependant, des études ont montré que sa sensibilité peut être augmentée si certains standards sont respectés. Cette nouvelle méthode de dépistage semble être très appréciée des femmes et pourrait être un précieux outil pour atteindre les femmes sous-dépistées. L'auto-prélèvement (vaginal ou urinaire) proposé via les MG pourrait ainsi avoir une place centrale au sein des nouvelles politiques de dépistage centrées sur les risques qui devraient voir le jour dans les prochaines années. Les MG pourraient également jouer un rôle essentiel dans le ciblage des populations de femmes à haut risque de CCU.

Objectifs : Cette étude apporte une analyse de la population cible sous-dépistée dans l'espoir d'en tirer des conclusions pour l'implémentation de futurs programmes de dépistage, à travers deux objectifs : 1) vérifier si l'utilisation d'une méthode de dépistage par test HPV sur prélèvement d'urine offert aux patientes sous-dépistées par des médecins généralistes permet d'augmenter la participation au dépistage du CCU ; 2) vérifier si les informations concernant les facteurs de risque des femmes sous-dépistées peuvent être retrouvés par l'intermédiaire des médecins généralistes. Un autre objectif de plus grande envergure est d'enrichir la base de données sur les facteurs de risque du projet européen RISCC.

Méthode : Nous procédons au recrutement et à la randomisation aléatoire de 150 femmes sous-dépistées au sein de deux bras d'étude : un bras expérimental dans lequel un kit de prélèvement d'urines premier jet est offert par un médecin, et un bras contrôle dans lequel le médecin rappelle aux participantes de réaliser un Pap-test. Les patientes doivent également répondre à un questionnaire sur leurs facteurs de risque du CCU.

Résultats : La préparation de cette étude a été retardée par la pandémie à COVID-19. Elle a débuté en avril 2021. L'étude est encore en cours et les résultats finaux ne sont pas encore disponibles.

Conclusion : Ce travail souligne l'intérêt de l'instauration de nouvelles recommandations concernant les politiques de dépistage basées sur les risques, la plus-value de l'auto-prélèvement urinaire pour atteindre les femmes sous-dépistées et l'importance du rôle la première ligne de soins dans l'établissement de nouveaux programmes de dépistage du CCU.

Mots clefs

Cancer du col de l'utérus (uterine cervical neoplasm), dépistage (screening), test HPV (HPV test), collecte d'échantillon d'urine (urine specimen collection), auto-prélèvement (self-sample), femme (female), participation (patient participation).

Indexation

X75 (cancer du col de l'utérus), QD42 (prévention secondaire), 35.000 (analyse d'urine), 33.010 (test du virus papillomateux humain), 37.006 (anatomopathologie – cytologie de frottis), QP6 (participation du patient), QS41 (médecin de famille), QC14 (adulte), QC22 (santé de la femme), QR325 (étude d'intervention).

Remerciements

Je remercie mon promoteur, Dr Guy Beuken, pour son accompagnement et son soutien.

Je remercie ma collègue, Dr Natacha Sorée, pour le temps consacré à la relecture de ce TFE, ses remarques judicieuses et ses précieux conseils.

Merci à mes collègues, Dr Morgane Hubrecht, Dr Victoria De Pierpont, Dr Jean Regniers, Dr Younes Fathallah, Dr Sandrine Brutsaert, Dr Thomas De Cartier et Dr Anne Gillet, pour leur investissement pour m'aider à mener à bien cette étude.

Je remercie également Dr Marc Arbyn et Dr Cindy Simoens pour leur expertise, leur guidance, leur aide logistique pour la mise en route de l'étude et le temps consacré à répondre à toutes mes questions.

Merci à Guyroger, Arézou et Sonia pour leur relecture précieuse.

A mon mari, mes parents et mes frères, sources quotidiennes de joie et de gratitude sur mon chemin de vie.

Liste des abréviations

<u>Abréviations</u>	<u>Significations</u>
AIS	Adénocarcinome In Situ
ARNm	ARN messenger
ASC-H	Atypical Squamous Cells, high-grade squamous lesion cannot be excluded
ASC-US	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
CCU	Cancer du Col de l'Utérus
CEHF	Comité d'Éthique Hospitalo-Facultaire
CIN	Cervical Intraepithelial Neoplasia (Néoplasie cervicale intraépithéliale)
DMI	Dossier Médical Informatisé
FCV	Frottis Cervico-Vaginal
H0	Hypothèse nulle
H1	Hypothèse alternative
HSIL	High-grade Squamous Intraepithelial Lesion $\approx$ CIN2/CIN3
HPV	Human PapillomaVirus (Virus du Papillome Humain)
hr-HPV	High-Risk HPV (Virus du Papillome Humain à haut risque oncogène)
lr-HPV	Low-Risk HPV (Virus du Papillome Humain à faible risque oncogène)
IARC	International Agency for Research on Cancer
IC	Intervalle de confiance
IST	Infections Sexuellement Transmissibles
KCE	Centre fédéral belge d'expertise des soins de santé
LSIL	Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion $\approx$ CIN1
MG	Médecine Générale ou Médecin(s) Généraliste(s)
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odds Ratio (Rapport de Cotes)
PAP-test	Test de Papanicolaou = test de dépistage cytologique
PCR	Polymerase Chain Reaction (Réaction de Polymérisation en Chaîne)
RISCC	Risk-based Screening for Cervical Cancer
RR	Risque Relatif
Test HPV	Recherche d'ADN de souches hr-HPV sur des prélèvements biologiques
TFE	Travail de fin d'étude
UCL	Université Catholique de Louvain

1. Introduction

En Belgique, en 2020, le cancer du col de l'utérus (CCU) reste le quatrième cancer le plus fréquent chez les femmes de 25 à 49 ans et il représente la troisième cause de mortalité par cancer au sein de cette population. **[1]** Selon un rapport récent, la couverture du dépistage du CCU est en baisse auprès des femmes belges, et ce malgré son accessibilité. Le dépistage du CCU tel qu'il est mis en place aujourd'hui est insuffisamment efficace et, selon l'IARC, si la tendance ne s'inverse pas, nous pourrions observer d'ici 2040, une augmentation non négligeable de l'incidence du CCU et de sa mortalité chez les femmes en Belgique. **[2,3]**

Il semblerait que les programmes de dépistage par Pap-test implémentés actuellement en Belgique et dans le reste de l'Europe atteignent leurs limites. Ils ont un effet protecteur insuffisant, en particulier pour les populations de femmes à haut risque de CCU. **[2,4-6]**

En parallèle, le test HPV fait l'objet de nombreuses études depuis plusieurs années. Présent au cœur des recommandations européennes, son efficacité n'est plus à démontrer. Les possibilités d'auto-prélèvements urinaires et vaginaux qu'il offre ne le rendent que plus intéressant. **[7]** L'efficacité de l'auto-prélèvement urinaire a fait l'objet de controverses au sein de la littérature scientifique. Récemment cependant, des études ont montré que sa sensibilité est similaire à celle d'un prélèvement réalisé par un clinicien, à condition de respecter certains standards en termes de condition de prélèvement, de conservation et d'analyse d'urines. **[8]** Dans le but d'atteindre les femmes sous-dépistées, l'auto-frottis vaginal et l'auto-prélèvement urinaire pourraient possiblement avoir une place centrale au sein des nouvelles politiques de dépistage centrées sur les risques qui devraient voir le jour dans les prochaines années. **[4,5,7]**

Ce contexte soulève plusieurs questions : quelles sont les causes sous-jacentes de cette tendance à la hausse de l'incidence du CCU et de cette baisse de couverture en Belgique et en Europe ? De quels outils disposons-nous actuellement pour y remédier ? Quel rôle les médecins généralistes ont-ils à jouer au sein de ce dépistage et que mettre en place pour revaloriser ce rôle ?

Ces questions ont été une source de motivation pour débiter ce travail et me lancer dans l'élaboration de l'étude que je vais vous présenter dans ce travail de fin d'étude (TFE). Cette étude est réalisée en collaboration avec Sciensano et s'inscrit au cœur du projet européen RISCC.

Comme nous le verrons dans les prochaines pages, cette étude apportera une analyse de la population cible sous-dépiatée en Belgique, dans l'espoir de pouvoir en tirer des conclusions transposables à l'échelle nationale et contribuer à l'implémentation de futurs programmes de dépistage plus efficaces et efficients.

Vu l'envergure du projet, le nombre d'acteurs qui y prennent part et la mise en place de l'étude en pleine pandémie à COVID-19, celle-ci a débuté en avril 2021 et est encore en cours aujourd'hui. Par conséquent, les résultats finaux ne sont pas encore disponibles ni interprétables.

2. Mise en contexte

En 2020, à l'échelle mondiale, le CCU reste le quatrième cancer le plus fréquent et la quatrième cause de mortalité par cancer chez les femmes. En 2020, 604 127 femmes dans le monde ont développé un CCU et 341 831 femmes sont décédées de ce cancer. **[1]**

En Belgique en 2020, le CCU est le quatrième cancer le plus fréquent chez les femmes de 25 à 49 ans et il représente la troisième cause de mortalité par cancer au sein de cette population. Cette même année en Belgique, 639 femmes (tous âges confondus) ont développé un CCU et 236 en sont décédées. **[1]** Selon l'IARC, si cette tendance se poursuit, nous pourrions observer d'ici 2040, une augmentation de 5,8% de l'incidence du CCU **[Annexe n°1]** et une augmentation de 19,1% de la mortalité par CCU **[Annexe n°2]** chez les femmes en Belgique (tous âges confondus). **[3]**

Actuellement, en Belgique francophone, le dépistage n'est pas « organisé » mais bien « opportuniste » et son efficacité n'est pas suffisante en termes de santé publique. **[2]** Un dépistage qui se fait de manière opportuniste induit souvent un sur-dépistage d'une partie de la population dite « favorisée socio-économiquement », ayant pour conséquence une utilisation trop importante d'examens complémentaires (tels que la colposcopie) qui diminue l'efficacité du dépistage. **[2,4,7,9]** Il induit aussi un sous-dépistage des femmes défavorisées, ce qui le rend peu efficace. Ainsi, le dépistage opportuniste est sous-performant par rapport à un dépistage organisé qui répond à des critères de qualité et qui suit les recommandations les plus récentes. **[2,7,9]** En Belgique, au cours de la dernière décennie, le dépistage opportuniste s'associe également à une forte diminution du taux de participation à ce dépistage à Bruxelles et en Wallonie : en effet, la couverture à Bruxelles est passée de 65% en 2008 à 46% en 2017, et celle de Wallonie de 64% en 2008 à 48% en 2017. Il semblerait également que les femmes socio-économiquement défavorisées participent moins au dépistage du CCU que celles qui sont plus favorisées, et ce en dépit de la gratuité du frottis de dépistage pour toutes les femmes (BIM et non-BIM) depuis 2013. **[2]** Dans ce rapport, on observe que les femmes jeunes sont mieux dépistées que les femmes plus âgées. Néanmoins, la diminution de participation est plus marquée au cours du temps chez les femmes jeunes

entre 2008 et 2017. **[2]** Or nous savons que, contrairement à la plupart des cancers, le CCU survient surtout chez les femmes jeunes avec une majorité de cas qui se développent entre 35 et 50 ans. **[9]**

Ces chiffres et ces faits sont particulièrement interpellants lorsqu'on sait que la mise en place d'un dépistage organisé avec une bonne couverture au sein d'une population, peut avoir un réel impact sur la morbi-mortalité liée à ce cancer et mener à une diminution de 80% de son incidence. **[9]** La tendance à la hausse de l'incidence du CCU et de sa mortalité au sein de la population belge questionne fortement les choix faits en termes de politique de dépistage.

A plus large échelle, la seconde édition des « European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening » publiée en 2008 et ses suppléments publiés en 2015 ont été un véritable tremplin pour l'établissement d'un dépistage du CCU dit « organisé » dans plusieurs pays européens. Et l'incidence du CCU avait diminué dans les pays qui parvenaient à obtenir un haut taux de couverture. **[4,5,7]** Cependant, dans plusieurs pays européens, on observe un ralentissement de la diminution, une stagnation voire une augmentation de cette incidence ; et ce malgré la mise en place d'un dépistage organisé depuis de nombreuses années. **[5,6]** Cela s'explique par :

- 1) une augmentation de l'exposition au Virus du Papillome Humain (HPV) combinée à l'utilisation d'une méthode de dépistage par analyse cytologique d'un frottis cervico-vaginal (FCV) qui montre des limitations en termes d'efficacité et peine à compenser cette exposition ;
- 2) une gestion de faible qualité des patientes testées positives au dépistage ;
- 3) une diminution de la participation au dépistage avec une baisse des taux de couverture. **[5,6]**

Les programmes de dépistages implantés actuellement en Europe ont un effet protecteur insuffisant sur les populations de femmes à haut risque. Si l'on veut diminuer l'impact du CCU sur la morbidité et la mortalité des femmes, il faudra mettre en place des politiques de dépistage qui ciblent les populations à risque de manière plus efficace. **[4]** De plus, ces dernières années, nous avons accumulé des données qui indiquent que la prévention primaire contre le CCU par la vaccination protège bien contre de futures infections aux principaux HPV

oncogènes et réduit ainsi le risque d'apparition d'un CCU dans les populations vaccinées. Les premières générations de femmes qui ont été vaccinées par le vaccin anti-HPV, ont maintenant l'âge de participer au dépistage du CCU. Ces nouvelles données viennent complexifier le dépistage tel qu'on le connaît aujourd'hui. **[4-6]**

C'est dans ce contexte que s'inscrit le projet RISCC (Risk-based Screening for Cervical Cancer), qui fait partie du programme Européen Horizon2020. Il a pour objectif de développer une approche du dépistage, de la prise en charge des cas positifs et du traitement du CCU, centrée sur les facteurs de risque. Cette approche permettra la mise en place de politiques de dépistage plus individualisées en tenant compte des antécédents de dépistage, de la vaccination contre le HPV et d'autres facteurs de risque tels que l'âge, le statut tabagique, l'immunosuppression (HIV et/ou traitements immunosuppresseurs), l'utilisation de contraception orale, etc. Le dépistage et le suivi seront ainsi plus efficaces et efficients grâce à un ciblage des populations à haut risque et à la possibilité d'adaptation des politiques de dépistage au sein de populations où l'incidence du CCU est plus faible suite à l'implémentation de stratégies de prévention primaire efficaces. **[4,6]**

Le manque de participation au dépistage du CCU s'explique par l'existence de barrières qui freinent de nombreuses femmes à suivre les recommandations en termes de prévention pour le CCU. Ce sujet a été traité par ma collègue, le Dr Natacha Sorée, dans le cadre de son TFE en médecine générale (année académique 2018-2019). A l'aide d'une étude transversale interventionnelle mixte et d'enquêtes auprès de notre patientèle et des médecins généralistes des communes d'Evere et Schaerbeek, elle a pu mettre en évidence des barrières émotionnelles, cognitives et organisationnelles qui constituent des obstacles importants à la participation de nos patientes, malgré l'accessibilité du dépistage. **[10]**

Depuis 2015, les recommandations européennes ainsi que celles du centre fédéral d'expertise des soins de santé (KCE) préconisent un changement de méthode de dépistage et invitent à remplacer le Pap-test par un test HPV comme premier test de dépistage. **[7,11]** En effet, le test HPV offre une sensibilité plus importante pour la détection des lésions pré-cancéreuses et un effet protecteur supérieur vis-à-vis des cancers invasifs en comparaison au Pap-test. De

plus, le test HPV permet également un auto-prélèvement (vaginal ou d'urines) par les patientes. **[7,11]**

Cette nouvelle méthode de dépistage du CCU par auto-prélèvement apporterait une plus-value : elle pourrait possiblement permettre d'augmenter la couverture du dépistage chez les femmes peu ou pas dépistées en réduisant les barrières qui entravent la participation de ces femmes au dépistage. **[6,7,11]** Les conclusions du TFE du Dr Sorée vont dans ce sens : les enquêtes menées au sein de notre patientèle montrent une attitude plutôt favorable de nos patientes vis-à-vis de cette nouvelle méthode de dépistage.

En confrontant ces conclusions à ma pratique, j'ai remarqué qu'il était difficile d'encourager certaines de nos patientes à se mettre en ordre pour le dépistage du CCU car il existe une méconnaissance du sujet et le FCV est parfois mal accepté émotionnellement et culturellement au sein de certaines populations de femmes. J'ai également été interpellée par les témoignages de mes collègues masculins qui, malgré leur motivation pour augmenter la prévention au sein de leur patientèle, rencontrent des difficultés à s'impliquer davantage dans le dépistage du CCU à cause du refus et de la gêne des patientes de subir un examen gynécologique par une personne du sexe masculin.

Je pense que la participation au dépistage du CCU est fortement liée à l'implication du médecin généraliste (MG). Je remarque que cette implication n'est pas suffisamment valorisée actuellement. Les MG détiennent les informations sur les facteurs de risque et le statut vaccinal de leurs patientes. A mon sens, l'établissement de futures recommandations pour le dépistage du CCU basées sur les risques pourraient (re-)valoriser le rôle que les MG ont à jouer dans ce dépistage. De même, l'introduction d'une méthode de dépistage par auto-prélèvement permettrait de lever certaines barrières à la fois chez les patientes sous-dépistées mais également chez certains médecins, et pourrait encourager les MG à augmenter leur implication dans ce dépistage et ainsi peut-être augmenter la participation au sein de leur patientèle.

Je souhaitais poursuivre le TFE de ma collègue et étudier concrètement l'impact de l'introduction d'une méthode de dépistage par auto-prélèvement sur la participation de nos

patientes dans le dépistage du CCU : j'en suis venue à contacter Dr Marc Arbyn¹, qui m'a proposé de prendre en charge une étude pilote qui s'inscrit elle-même dans une étude belge de plus grande envergure nommée « Belgian GP self-sampling RISCC (Risk-based Screening for Cervical Cancer) trials (BELGSSAR trials) ». L'étude BELGSSAR fait partie intégrante du projet européen RISCC. J'ai eu l'opportunité de prendre part à l'étude BELGSSAR en créant de A à Z le protocole d'une étude expérimentale ainsi que son questionnaire, en m'assurant de la bonne mise en place de l'étude, en m'occupant de la récolte des données et par la suite de leur analyse et de leur interprétation. Le protocole et le questionnaire créés seront repris par six à huit autres études similaires à celle-ci, qui font également partie de l'étude BELGSSAR et qui devraient se mettre en place prochainement dans quatre villes à travers la Belgique (Gent, Leuven, Bruxelles et Liège).

L'objectif de notre étude est double : 1) vérifier si l'utilisation d'une méthode de dépistage par auto-prélèvement d'urines offert par des MG permet d'augmenter la participation au dépistage du CCU ; 2) démontrer que les facteurs de risque pour le CCU de chaque patiente peuvent être retrouvés via les MG et leurs dossiers médicaux informatisés (DMI). De plus, la récolte d'informations sur les facteurs de risque des femmes sous-dépistées via le questionnaire permettra d'enrichir la base de données du projet RISCC concernant les facteurs de risque qui ne sont pas accessibles via les registres du cancer, et d'affiner ainsi le futur programme de dépistage basé sur les risques. **[4]** Je reviendrai plus en détails sur ces deux objectifs au point « 4.3. *Objectifs de l'étude et hypothèses* ». A plus petite échelle, la réalisation de cette étude au sein du cabinet permettra un apport important en termes de changement de pratique et de temps accordé en consultation à la prévention du CCU.

¹ Marc Arbyn est coordinateur au sein du Centre du Cancer de Sciensano.

3. Revue de la littérature

3.1. Description de la recherche de littérature

Dans un premier temps, afin de mieux cerner mon sujet de recherche, j'ai effectué une recherche non systématique dans la littérature scientifique afin de prendre connaissance des dernières recommandations européennes [7,9] et belges [11] pour le dépistage du CCU.

J'ai ensuite effectué une recherche systématique de la littérature auprès de plusieurs moteurs de recherche. J'ai sélectionné des sources de littératures, de hiérarchie différente en termes de niveau de preuves et de connaissances, qui étaient pertinentes pour répondre aux questions posées par ce travail :

- Guides de pratique clinique : sur le site du KCE, sur UpToDate, les guides de recommandations européennes ;
- Revues systématiques : sur Cochrane ;
- Synthèses de revues systématiques : sur Minerva ;
- Études primaires : sur Medline via PubMed et sur Embase.

Pour cette recherche systématique j'ai d'abord décomposé le sujet de recherche sous forme de mots clefs : « HPV », « cervical cancer » (« cancer du col de l'utérus »), « cervical cancer screening » (« dépistage du cancer du col de l'utérus »), « participation » (« participation »), « self-sample » (« auto-prélèvement »), « HPV test » (« test HPV »), « urine (self-)sample » (« (auto-)prélèvement d'urines »), « women » (« femmes »). Ces mots clefs ont été utilisés pour effectuer ma recherche sur le site du KCE, UpToDate, Cochrane ou encore Minerva.

J'ai ensuite enrichi mon vocabulaire en trouvant des synonymes ou termes équivalents sur base de ces mots clefs.

Enfin, pour pouvoir effectuer des recherches précises dans PubMed, j'ai converti ces mots clefs et synonymes en termes MeSH à l'aide du portail « HeTOP »². J'ai également réalisé des recherches sur Embase grâce au thesaurus « Emtree ». Vous trouverez le détail des équations de recherche utilisées à l'[Annexe n°3].

Dans le but de trouver d'autres sources de littérature pertinentes qui auraient échappé à cette recherche systématique, j'ai également effectué une recherche en étoile via l'analyse des références bibliographiques des sources de littératures trouvées précédemment.

Les critères d'inclusion des sources de littérature à mon travail ont été les suivants :

- Les sources de littérature publiées à partir de 2015, c'est-à-dire l'année de parution des dernières recommandations européennes (et de celles du KCE) pour le dépistage du cancer du col de l'utérus ;
- Les sources de littérature en français ou en anglais ;
- Les sources de littératures qui traitent des êtres humains, femmes et adultes ;
- Les sources de littérature qui parlent du test HPV et de l'auto-prélèvement d'urine et/ou de l'auto-frottis vaginal ;
- Les études réalisées au sein d'une population d'Europe concernant les études qui traitent de l'acceptabilité d'une méthode de dépistage.

J'ai exclu de ma recherche :

- Les sources de littérature publiées avant 2015 à l'exception des sources n°9, 14, 16, 32, 33 et 34, retenues pour leur pertinence dans l'élaboration de ce travail ;
- Les sources de littérature d'une autre langue que le français ou l'anglais ;
- Les sources de littérature qui traitent des hommes, des enfants et des femmes adultes de moins de 25 ans et de plus de 64 ans ;
- Les sources de littérature qui ne font pas référence à l'auto-prélèvement ;
- Les études qui traitent de l'acceptabilité d'une méthode de dépistage au sein d'une population non-européenne ou d'une population spécifique, peu représentatives de la population belge moyenne ;

² <https://www.hetop.eu/>

Ma recherche de littérature s'est effectuée entre avril 2020 et juin 2021 et est non exhaustive. Je vais maintenant procéder à un état des connaissances actuelles concernant le test HPV. Ce rappel théorique est nécessaire pour comprendre et justifier la méthodologie choisie pour notre étude.

3.2. Etat des connaissances

3.2.1. Le test HPV : comparaison avec le Pap-test

Actuellement en Belgique, la méthode de dépistage primaire utilisée pour la prévention secondaire du CCU est le Pap-test. Il consiste en un FCV réalisé par un clinicien au cours d'un examen gynécologique. Le matériel récolté est ensuite étalé sur une lame de verre (= cytologie conventionnelle) ou rincé dans un liquide de conservation (= cytologie en milieu liquide), puis envoyé au laboratoire pour une analyse cytologique. Cette analyse cytologique doit théoriquement faire l'objet d'une double lecture. Ce Pap-test est réalisé tous les 3 ans chez les femmes de 25 à 64 ans. [11]

Le Pap-test présente malheureusement plusieurs inconvénients :

- 1) Il ne détecte que 80% des CIN de haut grade (CIN2 ou CIN3) avec une sensibilité modérée qui est compensée par la réalisation du test de dépistage tous les 3 ans ;
- 2) La sensibilité du test est opérateur-dépendante et les résultats du test dépendent donc de l'expérience du clinicien et de la qualité du frottis ;
- 3) La lecture du test et son interprétation sont également opérateur-dépendantes avec une faible reproductibilité ;
- 4) Il existe une absence de contrôle de qualité et un manque d'évaluation des procédures utilisées pour le traitement et l'interprétation des analyses cytologiques en Belgique. [11]

Or, ce qui est attendu d'un test de dépistage primaire, c'est qu'il soit le plus sensible possible avec une capacité à détecter un maximum de lésions cervicales (pré-)cancéreuses en évitant les faux négatifs.

Depuis 2015, les recommandations européennes ainsi que celles du KCE préconisent un changement de stratégie de dépistage vers une méthode de dépistage primaire plus sensible, et invitent à remplacer le test cytologique par un test HPV.

Le test HPV détecte la présence d'un HPV à haut potentiel oncogène (hr-HPV) sur un prélèvement biologique³. Ce test ne consiste donc pas à donner un diagnostic de lésions (pré-)cancéreuses, mais plutôt à identifier les femmes qui sont plus à risque de les développer. **[12]**

Le test HPV possède une meilleure sensibilité que le Pap-test. Cependant, cette augmentation de sensibilité se fait au détriment de la spécificité : en effet, le test HPV est moins spécifique que le Pap-test et occasionne des faux positifs. Cela s'explique par le fait que toutes les infections à HPV n'évoluent pas vers des lésions (pré-)cancéreuses. Au contraire, elles sont souvent transitoires et régressent d'elles-mêmes. Cette baisse de spécificité peut donc mener à un surdiagnostic avec un suivi superflu des femmes testées positives mais qui ne présentent pas de dysplasie du col, une surutilisation d'examen complémentaires invasifs (tels que la colposcopie) et un surtraitement, avec des conséquences psychologiques (stress) et médicales (complications lors de grossesses ultérieures). **[7,10,11]** Cette baisse de spécificité peut être compensée grâce à :

- Un choix pertinent de technologies moléculaires pour l'analyse des prélèvements biologiques du test HPV ;
- Un intervalle augmenté entre les tests primaires de dépistage ;
- Une stratégie de triage des femmes positives au test HPV adaptée.

A cause de sa faible spécificité, l'effet protecteur du test HPV n'a été démontré que chez les femmes de 30 ans et plus. Contrairement au Pap test, le test HPV ne peut par conséquent pas être utilisé comme méthode de dépistage primaire entre 25 et 30 ans. **[7,11]**

Je développerai ces différents points ci-dessous.

³ Prélèvement biologique = sécrétions vaginales ou urines

a) Les technologies moléculaires utilisées lors de l'analyse du test HPV :

La technologie moléculaire la plus utilisée pour la détection de l'ADN du HPV est la biologie moléculaire d'amplification génique. Il en existe deux types : les tests d'hybridation avec amplification du signal et la PCR. [10,13]

▪ Les tests d'hybridation avec amplification du signal :

Les tests d'hybridation permettent la détection des treize souches de hr-HPV⁴ mais ils possèdent plusieurs inconvénients :

- 1) Le signal capté est proportionnel à la quantité d'ADN viral analysé : ce test nécessite un minimum de 5000 copies virales pour être certain de détecter correctement la présence d'un hr-HPV. C'est la raison pour laquelle une analyse par amplification du signal ne permet pas la possibilité d'un auto-prélèvement. En effet, la quantité d'ADN du virus est plus faible au niveau du vagin et l'auto-prélèvement ne permet donc pas de prélever une proportion suffisante d'ADN pour atteindre le seuil de détection du test. Cela a pour conséquence une sensibilité d'un auto-test HPV moins importante que celle d'un test HPV effectué sur un échantillon prélevé par un clinicien. [13-15]
- 2) Ils ne permettent pas de faire une distinction entre les différentes souches de hr-HPV et il existe des risques de réactivité croisée avec des souches lr-HPV présentes au niveau vaginal. [13,14,16]

Malgré le fait que les tests d'hybridation avec amplification du signal restent plus sensibles que la cytologie, les deux inconvénients cités ci-dessus rendent ces tests à la fois moins sensibles que la PCR et moins spécifiques que la cytologie. De ce fait, ils ne sont plus utilisés en pratique clinique. [10,13]

▪ La PCR :

Inversement, grâce à sa première étape qui consiste à amplifier un gène cible, la PCR permet d'obtenir des résultats positifs malgré la présence d'une quantité modeste de prélèvement biologique et un petit nombre d'ADN viral ou de copies virales. C'est grâce à une analyse par

⁴ hr-HPV = HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68

PCR et à cette étape d'amplification génique que la sensibilité des tests HPV auto-prélevés peut être similaire à la sensibilité des tests HPV prélevés par un clinicien. [14,15] De plus, lors de la seconde étape de la PCR, l'analyse des produits de l'amplification permet une distinction des différentes souches de hr-HPV.

C'est la PCR qui est utilisée en pratique clinique. Elle est plus sensible mais reste malgré tout moins spécifique que la cytologie car, comme mentionné ci-dessus, seule une petite proportion des infections à HPV évolueront vers des lésions pré-cancéreuses (CIN), voire un cancer invasif. [10,13]

Des techniques PCR récentes permettent également de cibler des séquences de gènes spécifiques au génome des hr-HPV, tels que les oncogènes E6 et E7. Grâce à ces techniques, une amélioration de la spécificité de la PCR est possible et on évite ainsi le phénomène de réactivité croisée pour les souches lr-HPV. [16] C'est cette technique PCR qui sera utilisée par le laboratoire AML pour l'analyse du matériel d'auto-prélèvement d'urines des patientes participant à l'étude : j'y reviendrai au point « 4.4.3. Focus sur le bras expérimental ».

Pour information

Les oncoprotéines produites par les oncogènes E6 et E7 interagissent avec les mécanismes de régulation de croissance des cellules du col utérin et jouent un rôle primordial dans la transformation dysplasique et néoplasique de ce tissu. Ces oncogènes sont donc très souvent exprimés lors d'une infection active à hr-HPV. De manière encore plus récente, de nouvelles techniques moléculaires ont été développées pour détecter cette expression active d'oncogènes. Elles ciblent l'ARNm, produit de la transcription des oncogènes E6 et E7. Ces techniques sont prometteuses car elles montrent une meilleure sensibilité et une spécificité similaire à celles de la cytologie. [13,17]

b) Un intervalle augmenté entre les tests primaires de dépistage :

Lors de l'utilisation du test HPV comme dépistage primaire, l'intervalle entre les dépistages peut être allongé chez les femmes testées négativement : en effet, des études montrent que les femmes ayant obtenu un test HPV négatif ont moins de risques de développer un CIN3+ ou un CCU durant les années qui suivent ce test, en comparaison aux femmes testées négativement à la cytologie. Les intervalles entre deux dépistages peuvent donc être étendus à minimum cinq années (au lieu de trois ans). [7,11,18]

c) Une stratégie de triage des femmes testées positives au test HPV adaptée :

A cause de la faible spécificité du test, il est essentiel de ne pas recourir directement à la colposcopie pour toutes les femmes testées positives au test HPV, de manière à éviter une utilisation abusive d'examens complémentaires voire un surtraitement. Il est donc primordial de mettre en place une stratégie de triage qui permette de distinguer les femmes infectées qui ont développé des lésions (pré-)cancéreuses suite à la présence du virus et qui nécessitent par conséquent des examens plus poussés, des femmes infectées qui n'ont pas développé de lésions (pré-)cancéreuses.

Aujourd'hui, il n'existe pas encore de consensus clair sur la stratégie de triage la plus sûre et efficiente. Selon le dernier rapport européen, la stratégie de triage la plus recommandée actuellement après un test HPV positif, est la réalisation sans délai d'une analyse cytologique, de préférence sur le même prélèvement pour éviter un risque de perte de vue des patientes.⁵ [7] En effet, la cytologie utilisée comme test de triage possède une sensibilité plus importante que la cytologie employée seule comme méthode de dépistage primaire. Cependant, à cause de la faible spécificité du test HPV, des études indiquent que deux tiers des femmes HPV positives présenteraient en fait une cytologie de tri négative ! Ces patientes nécessitent un suivi et ne peuvent être renvoyées vers le dépistage de routine car elles sont à risque de développer une dysplasie dans les mois/années à venir. Ainsi, utiliser la cytologie

⁵ Malheureusement ceci n'est pas réalisable lors de l'utilisation d'un auto-prélèvement... (voir point « 3.2.3. L'auto-prélèvement : sa place au sein d'une politique de dépistage »)

comme test de tri implique une stratégie de tri en deux temps avec un suivi dans le cas où la première cytologie se révèle négative. Or, le test de triage idéal serait celui qui se fait en une étape et qui, s'il est négatif, permettrait de renvoyer avec confiance les femmes vers le dépistage de routine ; et s'il est positif, justifierait de manière solide de référer les femmes vers la colposcopie. [7,11,19]

D'autres types de tests de tri sont encore en cours d'étude, tels que le génotypage des hr-HPV 16 et 18⁶ ou encore la détection de marqueurs de prolifération cellulaire anormale. L'hétérogénéité des résultats des études ne permet pas d'établir des recommandations précises, et des études supplémentaires sont nécessaires afin de définir le meilleur algorithme de triage, à la fois pour l'auto-frottis vaginal et pour le prélèvement d'urines. [7,19,20]

Pour information

La gestion des résultats de la cytologie de tri ne fait pas encore l'unanimité... Actuellement, les recommandations européennes de 2015 invitent à référer les femmes qui présentent un ASC-US, un ASC-H, un LSIL, un HSIL, un AIS ou un adénocarcinome infiltrant à la cytologie de triage, vers la colposcopie. [7] En revanche, le management des femmes qui présentent une cytologie de tri normale après un test HPV positif, est très hétérogène et n'est pas encore tout à fait au point. En 2015, le KCE indiquait que l'algorithme de suivi qui semble offrir le meilleur équilibre entre efficacité et sécurité pour le moment, est un contrôle cytologique 6 à 12 mois après une première cytologie de triage normale. [11]

d) L'effet protecteur du test HPV :

Au-delà de présenter une meilleure sensibilité que la cytologie, le test HPV possède également un effet protecteur plus important contre le CCU et permet de faire baisser son incidence grâce à une détection plus précoce des lésions précancéreuses persistantes. Cet effet

⁶ Les hr-HPV qui ont le plus haut potentiel oncogène.

protecteur n'a été démontré qu'à partir de l'âge de 30 ans : en effet, la prévalence des infections à HPV est plus haute chez les femmes de 25 à 30 ans. Ces infections sont souvent transitoires et régressent d'elles-mêmes. La spécificité du test HPV est donc encore plus basse chez ces femmes, avec un risque plus important de sur-diagnostic et de sur-traitement de lésions pré-cancéreuses qui auraient régressé spontanément sans traitement. [7,11]

3.2.2. L'auto-prélèvement : sa place au sein d'une politique de dépistage

Malgré le fait que le dépistage du CCU soit accessible pour les femmes en Belgique, de nombreuses barrières (émotionnelles, organisationnelles et cognitives) freinent nos patientes à se présenter chez leur médecin (généraliste ou gynécologue) pour effectuer un Pap-smear. Ces barrières sont responsables de disparités importantes en termes de couverture au sein de la population cible. [10]

Un avantage supplémentaire du test HPV est qu'il offre la possibilité d'effectuer une auto-prélèvement. Celui-ci consiste soit en un auto-frottis vaginal, soit en un prélèvement urinaire :

- **L'auto-frottis vaginal** : les cellules du col utérin (saines ou infectées par un HPV) desquament et se mélangent aux sécrétions génitales présentes au niveau du vagin. L'ADN viral du HPV peut ainsi être détecté par un frottis vaginal. [20] Depuis plusieurs années, des études s'accordent pour dire que lorsque le test HPV repose sur la PCR, la sensibilité de l'auto-prélèvement vaginal est similaire à celle du prélèvement réalisé par un clinicien pour dépister les lésions pré-cancéreuses CIN2 et CIN3, et les lésions cancéreuses. [14,15,21]
- **Le prélèvement d'urine** : cette partie sera développée ci-dessous au point « 3.2.4. *Le prélèvement urinaire : une nouvelle méthode d'auto-prélèvement pour le test HPV* ».

L'auto-prélèvement (vaginal ou urinaire) a le potentiel de surmonter certaines barrières émotionnelles et organisationnelles, et pourrait dès lors être un moyen adéquat d'atteindre les femmes sous-dépistées : il permettrait d'augmenter l'acceptabilité du dépistage chez les femmes peu disposées à subir un examen gynécologique. Une amélioration de l'accessibilité et de la couverture du dépistage est également possible à travers l'auto-prélèvement car il

offre beaucoup de possibilités en termes de distribution : en effet, plusieurs essais ont étudié les moyens d'atteindre les non-participantes au dépistage via l'auto-prélèvement. Elles montrent que l'envoi de kits d'auto-prélèvement aux femmes non-participantes est une méthode plus efficace pour augmenter leur participation, en comparaison aux lettres de rappel qui invitent à réaliser un Pap-test. Cependant, les résultats sont très hétérogènes (contexte-dépendant) et l'envoi de kits à toutes les femmes sous-dépistées est également très coûteux et induit un certain gaspillage de matériel s'il reste non-utilisé. Une alternative acceptable et moins coûteuse pourrait consister en un envoi de lettres qui invitent les femmes à demander elles-mêmes un kit d'auto-prélèvement. Cette stratégie donne de moins bons résultats mais semble être tout de même plus efficace que l'invitation au Pap-test. Notons également que l'augmentation de la participation est encore plus importante lorsque les kits sont offerts directement par des professionnels de la santé. **[7,8,12,15,22,23]**

Pour que le test HPV par auto-prélèvement puisse avoir une plus-value en termes d'augmentation de couverture au sein d'une politique de dépistage, il ne suffit pas qu'il soit acceptable pour la population cible. Il faut aussi que les personnes chez qui le test HPV auto-prélevé est anormal (positif aux hr-HPV) acceptent de se faire suivre. **[21]**

Les femmes montrant un auto-test HPV positif nécessiteront un test de triage (vu la faible spécificité du test HPV). Cependant, il n'est pas recommandé d'effectuer la cytologie de tri sur un auto-prélèvement à cause de sa faible sensibilité ! Par conséquent, les femmes testées positives lors de l'analyse de leur auto-prélèvement, devront finalement se soumettre à un examen gynécologique avec la réalisation d'un Pap-test par un clinicien. La compliance au suivi pourrait s'avérer être un véritable défi pour cette population cible difficile à atteindre, avec des risques de perdre de vue certaines de ces patientes... **[8,15,22]** Des recherches ont d'ailleurs montré que la compliance des patientes au suivi est très variable avec une hétérogénéité de résultats inter-études. **[12,21]** Si le taux de participation à la cytologie de tri est faible, on perd tout le bénéfice de l'augmentation de couverture du dépistage primaire obtenue grâce à l'auto-prélèvement ! Afin d'éviter ce risque de non-compliance au suivi médical nécessaire lors d'un test HPV positif, il serait pertinent d'utiliser un test de triage qui peut être réalisé directement sur l'auto-prélèvement. Une option possible actuellement serait

un triage avec un génotypage des HPV 16 et 18⁷ réalisable sur le matériel auto-prélevé. Au vu du très haut potentiel oncogène, leur présence sur le prélèvement justifierait alors de référer immédiatement ces patientes vers la réalisation d'une colposcopie. [7,15,22]

Cependant, le génotypage des HPV 16 et 18 montre des plus faibles sensibilité et spécificité, en comparaison à d'autres tests de triage. De plus, la prévalence du portage des HPV 16 et 18 est plus faible chez les femmes vaccinées contre le HPV. Ce changement de profil pourrait fortement influencer la valeur prédictive du génotypage des HPV 16 et 18 chez les femmes vaccinées. Des études supplémentaires dans le domaine des technologies de biologie moléculaire sont nécessaires pour définir un test de triage efficace sur les auto-prélèvements vaginaux et urinaires, et qui ne tient pas compte du typage HPV. [8,19,20,22]

Il est intéressant de noter que l'auto-prélèvement aurait toute sa place au sein d'une politique de dépistage centrée sur les risques : grâce aux multiples possibilités de distribution qu'il offre, c'est un bon moyen d'atteindre les femmes sous-dépistées et plus à risque de développer un CCU. Cependant, implémenter des stratégies d'utilisation de kits d'auto-prélèvement sans étudier ni connaître le contexte et les facteurs influençant la participation au dépistage secondaire et au suivi, pourrait résulter en des coûts conséquents pour la société avec un impact réduit sur la couverture et un effet protecteur moindre. Pour que cette stratégie soit le plus coût-efficace possible, il est important qu'elle s'établisse :

- 1) dans un environnement surveillé avec un dépistage (organisé ou opportuniste) soutenu par des registres à jour permettant un ciblage précis des femmes non- ou sous-dépistées et d'éviter d'envoyer des kits aux femmes déjà dépistées.
- 2) après une analyse de la population cible grâce à l'implémentation d'études pilotes qui auront permis de clarifier quel matériel d'auto-prélèvement est le plus accepté et quels algorithmes de distribution, de triage et de suivi des résultats sont les plus efficaces, efficaces et adaptés à la population dans laquelle s'inscrit cette nouvelle stratégie de dépistage. C'est le but de l'étude BELGSSAR à laquelle notre étude prend part : nous en reparlerons dans le point « 4.3. Objectifs de l'étude et hypothèses ». [7,8,22]

⁷ Les hr-HPV avec le plus haut potentiel oncogène.

3.2.3. Le prélèvement urinaire : une nouvelle méthode d'auto-prélèvement

En comparaison avec l'auto-frottis vaginal, le prélèvement urinaire possède le grand avantage d'être non-invasif. Il pourrait ainsi être mieux accepté dans certaines cultures, et plus confortable à réaliser pour les femmes réticentes à effectuer un auto-prélèvement vaginal. Certaines études ont d'ailleurs montré que l'auto-prélèvement urinaire est une méthode de prélèvement préférée par les femmes, bien que l'auto-frottis vaginal reste très apprécié en comparaison au FCV. **[8,24-28]**

Au sein de la littérature, on retrouve une grande hétérogénéité de résultats inter-études quant à l'efficacité clinique du test HPV réalisé sur un prélèvement urinaire. Cela s'explique par le fait que l'efficacité du test est fortement dépendante des conditions de prélèvement, de conservation et d'analyse des urines. **[8]** Des études récentes montrent qu'il n'y a pas de différence de sensibilité statistiquement significative entre l'auto-prélèvement urinaire, l'auto-frottis vaginal et le prélèvement réalisé par un clinicien **[25-29]**, à condition d'optimiser la détection d'HPV sur les urines à l'aide de certains standards **[24,30]** :

- 1) Utiliser un prélèvement d'urine premier jet : les cellules du col utérin (saines ou dysplasiques) desquament et se mélangent aux sécrétions génitales. Ces sécrétions (qui contiennent potentiellement de l'ADN viral) vont tapisser la sortie de l'urètre et les petites lèvres et vont être emportées par les urines lors de la miction. C'est la partie initiale des urines qui contient le plus de ces sécrétions génitales (et donc d'ADN viral)⁸. **[20,24,25,30-32]** L'utilisation d'un matériel spécifique pour la collecte d'un volume standardisé d'urines premier jet (tel que le Colli-Pee qui sera utilisé pour cette étude) permet de faciliter la récolte de la partie initiale des urines, d'augmenter la concentration de biomarqueurs présents au sein de l'échantillon, et ainsi d'améliorer la précision du test HPV. **[8,24-26,29-31]** Notons également que le moment de la journée durant lequel sont récoltées ces urines premier jet n'influence pas la qualité du prélèvement. Cela signifie que les patientes peuvent récolter leurs urines au

⁸ A condition de ne pas avoir uriné minimum 1h30 à 2h avant de procéder au prélèvement.

moment qui les arrange le mieux et cela diminue donc les barrières organisationnelles de la participation au dépistage. **[25,27,30]**

- 2) Prévenir la dégradation de l'ADN humain et du HPV en mélangeant les urines premier jet avec un milieu de conservation : les études qui utilisent un milieu de conservation qui empêche la dégradation des acides nucléiques présents dans les urines premier jet, obtiennent une meilleure sensibilité clinique du test HPV sur prélèvement d'urines. **[24-29,32]** Pour faciliter l'utilisation par les patientes d'un kit de prélèvement d'urines à la maison, il semble préférable que le matériel de prélèvement soit pré-rempli avec le liquide de conservation. A nouveau, le Colli-Pee utilisé durant notre étude correspond à ce critère.
- 3) Récolter un volume d'urines suffisant : une faible quantité d'urine n'est pas suffisante pour emporter avec elle toutes les sécrétions génitales accumulées au niveau vulvaire et ne permet pas d'obtenir une concentration suffisante en ADN viral et humain et en biomarqueurs pour permettre une détection sensible d'infections à hr-HPV. **[31]**
- 4) Procéder à l'analyse de l'ADN viral cellulaire et acellulaire en analysant l'urine non-fractionnée : en effet, il existe une certaine quantité d'ADN viral qui n'est pas uniquement lié aux cellules desquamées du col de l'utérus. La solution de conservation permet que cet ADN viral acellulaire soit préservé de la dégradation et puisse être détecté. Il faut ainsi éviter de traiter uniquement le sédiment ou le surnageant après centrifugation, au risque de diminuer la précision de notre test HPV. **[32]**
- 5) Utiliser une technique de biologie moléculaire valide et sensible, telle que la PCR.

Les résultats des études les plus récentes sont prometteurs et permettent l'utilisation de l'auto-prélèvement d'urine au sein d'études pilotes. Des études supplémentaires (telles que l'étude VALHUDES **[8,29]**) qui comparent les différents kits de prélèvement d'urines premier jet, les liquides de préservation, les méthodes d'extraction de l'ADN ainsi que les technologies de biologie moléculaire sont nécessaires afin de pouvoir utiliser de manière efficace l'auto-prélèvement d'urine à plus large échelle au sein d'une politique de dépistage pour le CCU.

4. Méthode

4.1. La question de recherche et recherche bibliographique

Comme je l'ai exprimé dans l'introduction, j'ai été interpellée par le travail de Natacha Sorée. Je souhaitais aller plus loin dans la réflexion de son TFE et étudier concrètement l'impact de l'introduction d'un auto-prélèvement sur la participation de nos patientes au dépistage du CCU. Après avoir parcouru la littérature à ce sujet et suite à plusieurs échanges avec le Dr Marc Arbyn, j'ai créé ma question de recherche : « ***Proposer des tests HPV prélevés à l'aide de kits d'auto-prélèvement d'urines (remis par le médecin généraliste) aux femmes entre 30 et 64 ans ne participant pas ou insuffisamment au dépistage du cancer du col de l'utérus, augmente-t-il leur participation à ce dépistage en comparaison à la politique de dépistage actuelle (c'est-à-dire la recommandation d'avoir une cytologie obtenue par un frottis cervico-vaginal prélevé par un clinicien tous les 3 ans) ?*** ».

4.2. Caractéristiques de l'étude

De manière à répondre à cette question de recherche, nous avons mis en place une étude clinique prospective interventionnelle, comparative, randomisée, ouverte et multicentrique ; combinée à une analyse transversale par questionnaire de notre échantillon de population.

Caractéristiques de l'étude et justifications

- **Prospective interventionnelle** : afin de répondre à une question clinique, nous évaluerons, au sein d'un groupe de personnes prédéfini, l'effet d'une intervention.
- **Comparative** : nous ferons une comparaison de la réponse obtenue suite à l'application de deux interventions différentes au sein de deux groupes distincts de patientes.
- **Randomisée** : nous procéderons à une répartition aléatoire des participantes entre les deux bras d'étude.
- **Ouverte** : chaque participante sait à quel groupe d'étude elle appartient. Il en va de même pour l'(le) (co-)investigateur.
- **Multicentrique** : d'autres études similaires, utilisant le protocole que j'ai créé, se dérouleront dans plusieurs cabinets de médecine générale en Belgique (6 à 8 cabinets).
- **Analyse transversale** : nous récoltons des informations sur les facteurs de risque du CCU au sein de notre échantillon de population.

Je reviendrai également sur ces différentes caractéristiques au fur et à mesure de la description de la méthodologie.

4.3. Objectifs de l'étude et hypothèses

Cette étude se réalise en collaboration avec Sciensano concernant les aspects scientifiques, statistiques et matériels. Elle s'inscrit également dans une étude belge randomisée participative multicentrique plus large nommée « Belgian GP self-sampling RISC (Risk-based Screening for Cervical Cancer) trials (BELGSSAR trials) » et coordonnée par le Dr Marc Arbyn : en effet, six à huit autres études similaires à celle décrite dans ce travail devraient avoir lieu dans quatre endroits différents en Belgique (Gent, Leuven, Bruxelles et Liège) au sein de cabinets de médecine générale. Chacune de ces études (y compris celle-ci) apportera une certaine analyse de la population sous-dépistée en Belgique. L'étude BELGSSAR comparera ensuite les résultats obtenus dans ces différentes pratiques de médecine générale, dans l'espoir de pouvoir en tirer des conclusions transposables à l'échelle nationale et contribuer à l'implémentation de futurs programmes de dépistage plus efficaces et efficaces.

Cette étude BELGSSAR s'inscrit elle aussi dans le cadre d'un projet européen nommée RISC qui fait partie du programme Européen Horizon2020 (Health, demographic change and wellbeing, personalised medicine, SC1-BHC-30-2019 – Towards risk-based screening strategies for non-communicable diseases).

Tel qu'expliqué au point « 2. *Mise en contexte* », le projet européen RISC (Risk-based Screening for Cervical Cancer) a pour objectif de développer une approche du dépistage et du traitement du CCU centrée sur les facteurs de risque. Cette politique de dépistage vise la diminution de l'incidence du CCU par : 1) un dépistage et une prise en charge plus efficaces et plus efficaces des populations à haut risque qui seront mieux ciblées ; 2) un dépistage plus efficace et plus efficace des populations à bas risque par une adaptation des politiques de dépistage au sein de ces populations où l'incidence du CCU est plus faible suite à l'implémentation de stratégies de prévention primaire efficaces. [4,6]

L'étude présentée ici apportera une analyse de la population cible bruxelloise sous-dépistée mais permettra aussi d'investiguer la façon dont les MG peuvent contribuer à améliorer l'efficacité du dépistage du CCU. Ceci se fera à travers un double objectif :

1) Vérifier si l'utilisation d'un kit de dépistage par auto-prélèvement d'urines offert par des médecins généralistes permet d'augmenter la participation au dépistage du CCU des femmes sous-dépistées :

Dans un premier temps, nous souhaitons vérifier l'hypothèse que la participation au dépistage est significativement plus importante quand le médecin généraliste offre directement des kits d'auto-prélèvement d'urines aux femmes sous-dépistées. Cette participation sera comparée avec celle d'un groupe contrôle dans laquelle nous appliquerons la politique de dépistage belge actuelle, c'est-à-dire recommander de faire un FCV prélevé par un clinicien tous les trois ans. L'hypothèse de départ se réfère à l'étude « E. Peeters, Papillomavirus Research, (2020) » qui a montré que le taux de participation au dépistage des femmes n'y participant habituellement pas (ou peu), était significativement plus important quand le médecin généraliste proposait un moyen d'auto-prélèvement vaginal comme méthode de dépistage, en comparaison à la politique de dépistage actuelle. [23] Cependant, la relation que le médecin entretient avec ses patientes, son enthousiasme et la manière dont les choses sont présentées peuvent fortement influencer les résultats d'une telle étude, avec une possibilité de biais qui pourrait sur-estimer l'opinion favorable des participantes vis-à-vis de l'auto-prélèvement. [7] Cette étude a pour objectif de vérifier si ces résultats sont reproductibles ou non avec une autre méthode d'auto-prélèvement, et ainsi confirmer ou infirmer l'hypothèse qu'un dispositif d'auto-prélèvement d'urines offert par un soignant permet d'augmenter significativement la participation au dépistage du CCU. De plus, les autres études pilotes qui vont avoir lieu ailleurs en Belgique ont un protocole similaire à celui de notre étude, à la différence que certaines utiliseront un kit d'auto-frottis vaginal dans le bras interventionnel de leur étude. Les réponses obtenues au sein de chaque étude seront donc comparables : cela nous permettra d'analyser la différence de participation des femmes sous-dépistées en fonction de leur accès à un kit d'auto-frottis vaginal ou à un dispositif d'auto-prélèvement d'urines.

A la lumière de ce premier objectif, nous identifions deux variables indépendantes au sein de la question de recherche :

- L'utilisation d'un kit d'auto-prélèvement d'urines, remis par un médecin généraliste, comme méthode de dépistage du CCU ;
- La recommandation orale de faire un dépistage par frottis cervico-vaginal réalisé par un clinicien (MG ou gynécologue).

Les variables indépendantes correspondent aux variables que l'on manipule au cours de l'étude et qui varient entre les deux bras d'étude.

Nous identifions également une variable dépendante : la participation au dépistage du CCU dans chacun des bras d'étude. La variable dépendante correspond au critère de jugement évalué. Autrement dit, c'est la réponse observée dans chacun des bras d'étude suite à l'application d'une des deux variables indépendantes.

Le premier but de l'étude est d'analyser l'impact des variables indépendantes sur le comportement (la participation) des participantes vis-à-vis du dépistage du CCU et ce, dans chacun des deux groupes observés. L'analyse des résultats nous permettra de déterminer s'il existe une différence significative de participation au dépistage du CCU entre les deux bras d'étude. On vérifiera ensuite si un lien de causalité est présent entre les variables indépendantes et la différence de participation observée (autrement dit, on vérifiera si cette différence est causée ou non par la manipulation des variables indépendantes).

En décrivant la méthodologie d'investigation plus loin dans ce travail, nous aurons l'occasion de revenir sur ces variables et la manière de les analyser.

2) Démontrer que les facteurs de risque pour le CCU de chaque patiente peuvent être identifiés via les MG et leurs DMI :

Dans un second temps, nous partons de l'hypothèse que ces facteurs de risque sont connus des médecins généralistes grâce aux DMI de leurs patientes et souhaitons vérifier cette hypothèse. Pour cela nous identifions les différents facteurs de risque de CCU chez les

patientes participant à l'étude grâce à un questionnaire. Celui-ci est complété grâce à une récolte déclarative d'informations et une recherche dans le DMI de chacune des participantes. Cette récolte d'informations contribuera à enrichir la base de données du projet RISCC concernant les facteurs de risque qui ne sont pas accessibles via les registres du cancer, et affiner ainsi le futur programme de dépistage basé sur les risques. [4]

4.4. Méthode d'investigation

Dans un premier temps, depuis Avril 2021, chaque patiente se présentant en consultation de médecine générale dans notre cabinet, quel que soit le motif, et répondant aux critères d'inclusion de l'étude, se voit proposer de participer à l'étude par le MG investigateur ou co-investigateur. Dans le cas où le médecin (co-)investigateur n'a pas le temps, durant cette consultation, d'expliquer l'étude à une patiente éligible, un rendez-vous ultérieur est fixé afin de pouvoir en discuter. Cette consultation, exclusivement consacrée à l'étude, n'est alors pas facturée à la patiente.

Dans un second temps, les patientes éligibles pour l'étude et qui ont donné leur accord pour participer sont randomisées grâce à l'utilisation d'un logiciel de randomisation en ligne nommé « sealed envelope »⁹ afin d'éviter tout biais de sélection. La randomisation se fait donc de manière aléatoire entre deux bras d'étude, de manière à obtenir un nombre égal de femmes dans chacun des deux bras :

- Le bras expérimental : la patiente se voit fournir un kit d'auto-prélèvement d'urines par le médecin généraliste. De manière à éviter des biais de participation, la patiente a le choix de prélever l'échantillon soit au cabinet, soit à domicile. Il est également important de noter que le prélèvement ne peut se faire au cabinet qu'à condition que la patiente n'ait pas uriné depuis au moins deux heures. Dans le cas contraire, le prélèvement devra se faire à domicile.

⁹ <https://www.sealedenvelope.com/>

- Le bras contrôle : la patiente reçoit une recommandation orale par le médecin généraliste qui lui rappelle la politique de dépistage actuelle et l'encourage à avoir un FCV prélevé par un clinicien de son choix (médecin généraliste ou gynécologue).

Ainsi, les patientes reçoivent soit un kit d'auto-prélèvement, soit la recommandation d'avoir un FCV réalisé par un clinicien. Cela implique que la randomisation des participantes est ouverte et ne peut se faire ni en simple, ni en double aveugle.

Dans un troisième temps, lors de cette même consultation, la participante à l'étude doit également répondre à un questionnaire. **[Annexe n°4]** Ce questionnaire permet d'identifier les facteurs de risque du CCU de chaque participante. Cette récolte d'informations se fait oralement (récolte déclarative d'informations) par le médecin (co-)investigateur. Si nécessaire, l'identification de ces facteurs est complétée par un examen du DMI de la participante par le médecin (co-)investigateur et en présence de la patiente. En cas d'informations incomplètes, cet examen du DMI de la participante peut être également réalisé par le médecin investigateur en l'absence de la patiente.

4.4.1. La durée de l'étude

L'étude a débuté en Avril 2021. La période de recrutement et donc le temps nécessaire pour obtenir 75 patientes dans chaque bras d'étude (150 patientes au total) dépendra de l'acceptabilité des patientes contactées et du temps qui sera consacré à l'étude par les MG du cabinet Mosaïque.

Grâce à notre programme informatique "HealthOne", nous savons que sur 12 mois environ 1350 femmes de 30 à 64 ans se rendent en consultation dans le cabinet de médecine générale « Mosaïque ». Nous savons également, selon le rapport de l'agence intermutualiste, que le pourcentage de couverture de la population belge pour le dépistage du CCU est d'environ 60%. **[2]** Ainsi, environ 40% de la population ne participe pas ou peu au dépistage et n'a pas eu de FCV réalisé au cours des 3 dernières années. Sur 12 mois, environ 540 patientes sous-dépistées se présentent au cabinet Mosaïque. Si les MG du cabinet consacrent 40% de leur

temps au recrutement, ils pourraient potentiellement recruter 216 patientes éligibles en 1 an. Il faudrait donc environ 8,3 mois pour recruter nos 150 patientes nécessaires à l'étude.

La durée de participation dans l'étude sera de 6 mois pour chaque participante à compter du moment où la participante a été recrutée.

4.4.2. Focus sur la participation

La première donnée que nous évaluerons durant cette étude est la différence de participation au dépistage du CCU entre le bras expérimental et le bras contrôle.

Afin de déterminer si une patiente a participé ou non au dépistage, nous tiendrons compte des tests de dépistage réalisés par chaque patiente dans chacun des bras d'étude jusqu'à six mois après l'enrôlement du sujet.

Nous considérons qu'une patiente a participé au dépistage si, au cours des six mois post-recrutement, la patiente a :

- ☒ Dans le bras expérimental : remis son auto-prélèvement au laboratoire AML ;
- ☒ Dans le bras contrôle : obtenu un FCV prélevé par un clinicien de son choix (médecin généraliste ou gynécologue).

4.4.3. Focus sur le bras expérimental

a) Gestion des échantillons d'auto-prélèvement

Le matériel d'auto-prélèvement d'urines utilisé est le Colli-Pee (Novosanis NV, Wijnegem, Belgium). Le Colli-Pee permet de récolter les dix premiers millilitres des urines (prélèvement d'urines premier jet). Le Colli-Pee est pré-rempli avec une solution tampon UCM (Universal Collection Medium) adaptée pour la préservation de matériel destiné à être analysé par des tests moléculaires qui détectent les agents infectieux tel que le HPV [8]. La notice d'utilisation de ce matériel se trouve à l'[Annexe n°4].

Les prélèvements urinaires du bras expérimental seront traités et analysés au laboratoire AML situé à Anvers.

Dans le cas où le prélèvement est fait à domicile, la patiente devra envoyer l'échantillon d'urines au laboratoire AML par la poste à l'aide d'une enveloppe préadressée et prépayée.

Dans le cas où le prélèvement est fait au cabinet, le médecin (co-)investigateur enverra lui-même au laboratoire AML l'enveloppe contenant l'échantillon.

L'analyse des échantillons se fera grâce à la technique d'amplification des acides nucléiques par la PCR afin de vérifier la présence de hr-HPV. Le test HPV utilisé sera le RIATOL qPCR (qui détecte les gènes HPV E6/E7 qui codent pour des oncoprotéines) avec une mesure de la charge virale des treize HPV à haut risque oncogène (c'est-à-dire les HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68). Ce test est validé pour le dépistage du cancer du col de l'utérus. [16]

Aucun frais supplémentaire ne sera demandé aux patientes du bras expérimental ou à leurs organismes assureurs (ni pour le matériel d'auto-prélèvement, ni pour l'analyse PCR de l'échantillon d'urines, ni pour l'envoi du prélèvement au laboratoire).

b) Recueil et gestion des résultats des auto-prélèvements

Les résultats du bras expérimental seront obtenus directement auprès du laboratoire AML sur leur site en ligne grâce à un identifiant et mot de passe attribués au médecin investigateur.

Nous communiquerons les résultats des tests HPV réalisés sur les auto-prélèvements d'urine aux patientes du bras expérimental, d'autant plus que nous pensons que cette information pourrait potentiellement sensibiliser ces patientes et les motiver à participer davantage au dépistage du CCU.

Pour les patientes avec un résultat positif, la recommandation du suivi de ce test sera d'avoir un FCV de triage avec analyse cytologique. Les patientes du bras expérimental avec un FCV de tri négatif seront invitées à poursuivre la politique de dépistage actuellement recommandée

en Belgique. Celles qui présenteront un FCV de tri anormal, seront prises en charge selon les recommandations belges actuelles.

Les patientes du bras expérimental qui auront participé seront bien sûr intégrées dans le registre du cancer comme participante au dépistage du CCU.

4.4.4. Focus sur le bras contrôle

a) Gestion des frottis cervico-vaginaux prélevés au cabinet

Les FCV du bras contrôle qui seront réalisés au cabinet, se feront via l'utilisation d'une Cervex brush®. Le matériel prélevé au niveau du col à l'aide de la Cervex brush® sera ensuite transféré dans un milieu liquide : le flacon de solution PreservCyt®. Les échantillons seront récoltés par le laboratoire Bauduin (laboratoire avec lequel le Cabinet Mosaïque travaille) et envoyés pour analyse cytologique en milieu liquide à l'institut de Pathologie et Génétique de Gosselies.

b) Recueil des résultats des frottis cervico-vaginaux

Les résultats du bras contrôle seront obtenus soit dans le DMI de la patiente grâce à l'intégration directe des résultats du laboratoire Bauduin dans notre programme informatique (dans le cas où le Pap-test est réalisé dans notre cabinet), soit via le réseau santé, soit grâce à un accès au registre du cancer¹⁰, soit grâce à un contact direct avec le clinicien qui aura prélevé le frottis ou avec le laboratoire qui l'aura analysé.

4.4.5. Focus sur le questionnaire

Le questionnaire sera rempli par les patientes en présence d'un médecin (co-)investigateur, de manière à ce qu'elles puissent poser toutes les questions nécessaires à une bonne compréhension du document. **[Annexe n°4]**

¹⁰ Des formalités administratives sont en cours dans ce sens.

Il est composé de vingt-deux questions dont :

- Cinq questions semi-ouvertes courtes ;
- Huit questions fermées à réponses de type binaire avec la possibilité de cocher la réponse « je ne sais pas » pour trois d'entre elles ;
- Neuf questions à choix multiples avec une seule réponse possible et la possibilité de cocher la réponse « je ne sais pas » pour deux d'entre elles.

Ces questions portent sur les facteurs de risque du cancer du col de l'utérus. Les informations récoltées sont les suivantes : l'âge, le statut socio-économique, la consommation de tabac, les antécédents de maladies ou de traitement diminuant l'immunité, le comportement sexuel, les facteurs liés à la reproduction, l'utilisation de moyens de contraception, les antécédent(s) d'infections sexuellement transmissible(s), le statut vaccinal pour le vaccin contre le HPV, la participation au dépistage du CCU et les antécédents de FCV anormaux. J'ai créé ce questionnaire en aout 2020 sur base de recherches sur UpToDate et d'une recherche de littérature en étoile. [33,34] Il a ensuite été relu et corrigé par Dr Marc Arbyn et Dr Cindy Simoens (Sciensano) en septembre 2020 et en février 2021. Ce questionnaire sera utilisé dans les autres études similaires qui auront lieu en Belgique.

4.5. La population étudiée

La population cible de l'étude sont les femmes entre 30 et 64 ans, patientes au cabinet de médecine générale « cabinet Mosaïque » localisé à Schaerbeek (Bruxelles) et ne participant pas ou peu au dépistage du CCU : c'est-à-dire n'ayant pas fait de FCV durant les trois (ou plus) dernières années. Ces patientes devront également répondre à d'autres critères d'inclusion cités ci-dessous pour pouvoir être recrutées dans notre étude.

4.5.1. Les critères d'inclusion

Voici les critères d'inclusion auxquels chaque patiente doit répondre pour devenir participante à l'étude :

- ☑ Être une femme ;
- ☑ Avoir un âge compris entre 30 et 64 ans ;
- ☑ Peu ou pas de participation au dépistage du cancer du col de l'utérus : pas de frottis cervico-vaginal réalisé les 3 (ou plus) dernières années ;
- ☑ Ne pas avoir d'antécédent d'hystérectomie (radicale) totale ;
- ☑ Ne pas être enceinte au moment de l'étude ;
- ☑ Ne pas être en cours de suivi pour une anomalie cytologique cervicale découverte lors d'un précédent frottis ;
- ☑ Ne pas avoir d'antécédent de cancer du col de l'utérus ;
- ☑ Avoir la capacité de comprendre et/ou de signer le formulaire de consentement de participation à l'étude ;
- ☑ Avoir donné son consentement pour la participation à l'étude.

4.5.2. Les critères d'exclusion

Voici les critères d'exclusion de l'étude :

- ☒ Ne pas être une femme ;
- ☒ Avoir un âge inférieur à 30 ans ou supérieur à 64 ans ;
- ☒ Avoir eu un frottis cervico-vaginal réalisé les 3 dernières années ;
- ☒ Être enceinte au moment de l'étude ;
- ☒ Avoir eu une hystérectomie (radicale) totale ;
- ☒ Avoir des antécédents de cancer du col de l'utérus ;
- ☒ Avoir été traitée pour une dysplasie cervicale il y a moins de 3 ans ;
- ☒ Ne pas avoir donné son accord pour participer à l'étude ;
- ☒ Être dans l'incapacité de comprendre et/ou de signer le formulaire de consentement

4.5.3. La taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon a été calculée en se basant sur les résultats de l'étude pilote « E. Peeters, Papillomavirus Research, (2020) » : nous émettons l'hypothèse que la différence de réponse entre les deux bras serait de 27% avec un taux de participation attendu dans le bras contrôle de 51% et un taux de participation dans le bras expérimental de 78%. [23]

L'intervalle de confiance accepté est de 95% et la puissance de l'essai de 90%. Selon nos calculs, nous estimons donc que le nombre de sujets nécessaires dans chacun des bras est

de 72 pour éviter l'erreur de type II (erreur β)¹¹, c'est-à-dire ne pas rejeter l'hypothèse nulle à tort et conclure que notre intervention n'a aucun effet sur la participation de nos patientes alors qu'elle en a un. Nous arrondissons ce chiffre à 75 participants dans chacun des bras. La taille totale de l'échantillon est de 150 sujets.

4.6. Analyse statistique des résultats

Le processus de recueil des données de participation des patientes a été décrit précédemment. Les données seront analysées grâce à un programme statistique (« Stata ») avec l'aide de Sciensano et du Dr Marc Arbyn.

Afin de ne pas être confronté à un biais d'attrition et faire une mauvaise évaluation de l'effet de l'intervention, l'analyse de la différence de réponse entre le bras expérimental et le bras contrôle se fera en « per protocol » et en « intention to treat » : l'analyse per protocol tiendra compte uniquement des participantes qui ont achevé leur période de participation avec une compliance parfaite aux instructions du protocole de l'étude. Cependant, si l'on se contente de cette méthode d'analyse, on risque d'exclure des patientes de notre analyse statistique et d'en tirer des conclusions inexactes. L'analyse en « intention de traiter » tiendra compte de la réponse de l'ensemble des participantes randomisées dans leur bras d'étude respectif, quel que soit leur observance du protocole de base. Je reviendrai en détails sur les étapes des calculs statistiques qui seront réalisés à la fin de l'étude au point « 5. Résultats ».

4.7. Précautions éthiques prises

L'étude a reçu l'accord du comité d'éthique hospitalo-facultaire Saint Luc (UCLouvain) le 08 janvier 2021. **[Annexe n°5]**

L'identité et la participation des sujets à l'expérimentation demeureront strictement confidentielles conformément aux lois belges du 30 juillet 2018 relative à la protection de la

¹¹ L'erreur bêta (ou erreur de type II) consiste à accepter l'H0 à tort.

vie privée et du 22 août 2002 relative aux droits du patient ainsi que par la réglementation européenne (réglementation générale européenne sur la protection des données à caractères personnel (RGPD) du 25 mai 2018) en vigueur. Aucun des sujets ne pourra être identifié de quelque manière que ce soit dans les dossiers, résultats ou publications en rapport avec l'expérimentation. Aussi, en accord avec cette loi, chaque participante a un droit de regard sur les données personnelles récoltées durant l'étude, peut y apporter des rectifications au cas où elles seraient incorrectes et peut également limiter l'utilisation de ces données.

De plus, les données récoltées ne feront pas l'objet d'une utilisation autre que cette étude et l'étude BELGSSAR. Nous nous engageons également à coder ces données avant de les transmettre au gestionnaire de la base de données collectées. A cet effet, toutes les informations obtenues lors de l'étude seront pseudonymisées et chaque patiente recevra un code unique auquel tous les prélèvements, données et résultats d'étude seront reliés. Le médecin investigateur et son équipe seront les seuls à pouvoir faire le lien entre les données récoltées pendant toute la durée de l'étude et les DMI des patientes.

Ceci est vrai à l'exception des données recueillies lors du questionnaire. Ces informations seront, quant à elles, anonymisées avec une impossibilité de coupler ces données aux DMI des patientes.

Chacune des parties impliquées dans l'étude s'est engagée à respecter strictement ces règles de confidentialité.

Les données seront stockées dans un premier temps dans le cabinet de médecine générale « Mosaïque » pendant toute la durée de l'étude. Ces données seront conservées sous clef sous format papier. Celles-ci seront également retranscrites, codées et conservées de manière informatisée dans une base de données créée sur Excel. Des backups seront régulièrement effectués. A la fin de la période de recrutement, les données récoltées, anonymisées et codées, seront transmises à Sciensano.

De plus, chaque participante est libre de faire le choix de sortir de l'étude dès qu'elle le souhaite et sans nécessité de justification de son choix.

Ensuite, la participation à l'étude n'entraîne aucun frais supplémentaire pour les participantes, que celles-ci soient randomisées dans le bras expérimental ou contrôle. En effet, dans le bras expérimental le kit d'auto-prélèvement, son envoi ainsi que son analyse en laboratoire sont à la charge du promoteur (Sciensano). Dans le bras expérimental, la participante devra simplement payer la consultation de dépistage chez son médecin généraliste ou son gynécologue. L'analyse cytologique en laboratoire du FCV de dépistage sera, lui, à charge de l'organisme assureur et ne demandera pas de frais supplémentaire à la patiente. Il en va de même pour les participantes du bras expérimental qui décideraient de finalement suivre la politique de dépistage classique.

Par ailleurs, toutes ces informations ainsi que le protocole d'étude sont expliqués à chaque participante oralement et par écrit dans le formulaire de consentement qui lui est destiné et qu'elle doit signer si elle donne son accord pour participer. **[Annexe n°4]**

Enfin, l'accès aux résultats d'urines ou de frottis nécessitera l'utilisation du numéro NISS des participantes. Le formulaire de consentement signé par les participantes informe sur l'utilisation de ce numéro NISS. **[Annexe n°4]**

4.8. Conflits d'intérêt

Un conflit d'intérêt a été mis en évidence : l'étude peut induire une augmentation possible de la visibilité du cabinet médical de médecine générale (cabinet Mosaïque) dans lequel se déroule l'étude. Il en va de même pour les médecins qui y travaillent. Aucun conflit d'intérêt d'ordre financier n'a été mis en évidence.

5. Résultats

La première donnée que nous évaluerons durant cette étude est la participation au dépistage du CCU dans chaque bras d'étude et la différence de participation entre ces deux bras.

Dans un premier temps, nous admettons que :

- Notre hypothèse nulle (H_0) est : « l'intervention (= donner un kit d'auto-prélèvement d'urines) n'augmente pas la participation au dépistage du CCU dans le bras expérimental (en comparaison à la politique de dépistage actuelle) ».
- L'hypothèse alternative (H_1) est : « l'intervention (= donner un kit d'auto-prélèvement d'urines) augmente la participation au dépistage du CCU dans le bras expérimental (en comparaison à la politique de dépistage actuelle) ».

Nous acceptons un intervalle de confiance (IC) de 95% et donc un risque d'erreur de type I (erreur α)¹² de 5%. La puissance de l'essai est de 90%.

Dans un second temps, nous mesurerons la participation en valeur absolue de chaque bras d'étude. Nous calculerons ensuite le taux de participation (= la probabilité de participer) dans chaque bras d'étude en pourcentage ainsi que la différence du taux de participation entre les bras (en pourcentage également).

Dans un troisième temps, nous soumettrons nos résultats au test d'indépendance du Khi carré (χ^2) pour déterminer si la différence de participation observée entre nos deux bras d'étude est réellement liée à l'intervention ou, au contraire, indépendante de l'intervention. Pour se faire, nous calculerons le χ^2 . En tenant compte du nombre de degrés de liberté qui interviennent dans cette étude¹³, nous comparerons la valeur χ^2 observé au χ^2 seuil correspondant à une probabilité d'erreur de type I (= erreur α) de 5%. Ceci nous permettra de vérifier si nous pouvons ou pas rejeter l'hypothèse nulle (H_0) en faveur de l'hypothèse alternative (H_1). Si le χ^2 observé est supérieur au χ^2 seuil, nous pourrions alors rejeter l' H_0 .

¹² L'erreur alpha (ou erreur de type I) consiste à rejeter l' H_0 à tort.

¹³ Dans cette étude, il y a 1 degré de liberté.

Nous vérifierons enfin le degré de confiance de notre test d'indépendance en regardant la p_{value} associée au χ^2 observé : plus la p_{value} sera petite, plus on sera confiant dans le rejet de cette H_0 .

Dans un quatrième temps, nous vérifierons la force d'association entre notre intervention et la participation au dépistage du CCU grâce aux calculs du RR (Risque Relatif) et de l'OR (Odds Ratio). Nous espérons vérifier l'efficacité de notre intervention à augmenter de manière significative la participation de nos patientes du groupe interventionnel : « la participation » étant un événement favorable, nous espérons donc avoir un RR et un OR supérieurs à 1 avec un intervalle de confiance accepté de 95% qui exclut la valeur de l'absence d'effet (la valeur 1 dans ce cas-ci). En effet, obtenir un RR et un OR supérieurs à 1 avec un IC qui exclut 1, signifierait que les patientes recevant un kit d'auto-prélèvement d'urines sont significativement plus susceptibles de participer au dépistage du CCU que les patientes du groupe contrôle.

Ensuite, les autres données que nous évaluerons sont les réponses à notre questionnaire concernant les facteurs de risque du CCU. Ces réponses sont récoltées de manière déclarative auprès de chaque patiente, ainsi que sur base de l'analyse du DMI des patientes. Dans le but de faciliter l'analyse de ces réponses, celles-ci seront ensuite reportées sous forme codée dans une base de données créée sur un fichier Excel. Les variables du questionnaire sont de type qualitatif (nominal ou ordinal suivant les questions). Nous procéderons à une analyse statistique descriptive de ces variables en les présentant sous forme de proportions (pourcentages) de réponses données. Pour chacune de nos questions, nous décrirons aussi la tendance centrale de nos données à l'aide du mode qui représente la donnée avec le plus grand effectif de réponses. Enfin, nous présenterons cette analyse descriptive sous forme de représentations graphiques et de tableaux de synthèse adaptés aux données étudiées. Pour l'étude BELGSSAR, cette première analyse descriptive facilitera la comparaison de ces données avec celles récoltées dans les autres études similaires qui auront lieu ailleurs en Belgique. Elle permettra également de tirer des conclusions sur le profil de risque des participantes et sur la détention d'informations par les MG concernant les facteurs de risque du CCU de leurs patientes.

6. Discussion

6.1. Validité de l'étude : justification de la méthode choisie

Afin de s'assurer que la différence de participation observée entre les deux groupes d'étude soit bien liée à l'intervention (c'est-à-dire au fait de proposer un auto-prélèvement d'urines comme méthode de dépistage du CCU), nous devons mettre en place des procédures qui vont augmenter la validité interne¹⁴ de notre étude :

- Avant de réaliser l'étude, nous avons formulé une hypothèse de départ que nous souhaitons vérifier et qui guide notre réflexion. Ceci nous a permis de formuler des objectifs de recherche pertinents et de mettre en place une méthodologie appropriée.
- Nous diminuons le biais de sélection grâce à une randomisation au hasard des participantes dans chacun des deux bras d'étude. Cette randomisation s'effectue grâce à un logiciel en ligne qui empêche les (co-)investigateurs d'avoir connaissance et de prévoir la séquence d'attribution. Cela évite de potentielles manipulations de la répartition des participantes dans l'un ou l'autre bras d'étude. La réalisation d'une étude comparative avec la présence d'un groupe contrôle (gold standard) comme point de comparaison permet également d'augmenter la validité interne de l'étude. Nous augmentons également le contrôle en sélectionnant strictement l'échantillon de population étudié grâce à l'instauration de critères d'inclusion. Nous assurons la comparabilité du groupe contrôle et du groupe expérimental car ces critères d'inclusion sont similaires pour les deux bras et le nombre de participantes sera a priori identique dans les deux groupes.
- Nous augmentons le contrôle de notre étude en procédant à la manipulation de nos variables indépendantes. Ceci nous permet de soumettre de manière systématique chaque groupe d'étude à l'une ou l'autre variable indépendante. Nous pouvons de la sorte vérifier avec plus de précision le lien de causalité entre la soumission de chaque

¹⁴ La validité interne d'une étude évalue dans quelle mesure les résultats obtenus peuvent être attribués à l'intervention (elle évalue la qualité méthodologique d'une étude).

groupe aux variables indépendantes et la variation de réponse observée entre les deux groupes.

- Nous diminuons le biais de participation en laissant le choix aux participantes du bras expérimental de prélever l'échantillon d'urine au cabinet ou à domicile.
- Nous diminuons le risque de biais d'attrition grâce à une analyse des résultats en « per protocol » et en « intention to treat ».
- Le biais d'attrition s'amenuise également en réduisant au maximum le risque de perdre des participantes de vue grâce à un suivi complet de chaque patiente jusqu'à la fin de sa période de participation (c'est-à-dire du moment de sa randomisation jusqu'à six mois après son inclusion).
- Nous diminuons le biais de détection (ou d'observation) car le critère de jugement évalué est objectif et non subjectif.
- Au moment de répondre au questionnaire, nous diminuons le risque de biais méthodologique grâce à l'utilisation de questions simples, courtes, objectives et non orientées, et aussi grâce à la présence d'un médecin (co-)investigateur qui permet de répondre aux questions de compréhension des patientes.

La comparaison des résultats obtenus avec ce qui a déjà été étudié dans la littérature et avec les résultats des autres études belges qui se dérouleront en parallèle nous permettra d'évaluer la validité externe¹⁵ de cette étude et permettra de déterminer si les résultats obtenus sont possiblement transposables à la population étudiée.

Toutefois, pour augmenter les chances que les résultats trouvés soient transposables à la population étudiée, nous devons aussi mettre en place des procédures qui vont augmenter la validité externe de notre étude :

¹⁵ La validité externe d'une étude évalue dans quelle mesure les résultats obtenus de l'étude d'un échantillon de population peuvent être généralisables à plus large échelle.

- L'échantillon est plus représentatif grâce à un large recrutement des patientes qui se fait au hasard au sein de la première ligne que constitue la médecine générale. En effet, il n'y a pas de sélection restreinte des patientes par le médecin puisque chaque femme répondant aux critères d'inclusion de l'étude et se présentant d'elle-même en consultation pour n'importe quelle raison, se verra proposer d'être enrôlée dans l'étude.
- L'étude est multicentrique : des études similaires auront lieu dans différentes régions en Belgique.

6.2. Biais de l'étude : critique de la méthode choisie

La validité interne de l'étude diminue car :

- Nous faisons face à un biais de performance puisque la randomisation ne pourra pas se faire en double insu : elle sera ouverte. Ainsi, le(s) médecin(s) (co-)investigateur(s) risque(nt) de modifier leur comportement en fonction du bras dans lequel une patiente recrutée est randomisée (modification du comportement en termes d'enthousiasme, de scepticisme, de la qualité des explications, etc.). De même, les attentes des patientes sont peu contrôlables et leur comportement risque d'être influencé par celui de l' (des) (co-)investigateur(s). Tout ceci diminue la comparabilité des deux bras d'étude et pourrait influencer les résultats et leur interprétation.
- Il existe un biais de détection (ou d'observation) car la récolte des résultats ne se fera pas en insu : l'évaluateur connaît la randomisation de chaque participante et le ressenti de cet évaluateur peut influencer l'interprétation des résultats. Cependant, tel qu'expliqué au point précédent, le critère de jugement est objectif et non subjectif, ce qui diminue ce biais de détection.
- Nous augmentons le contrôle de notre étude en procédant à la manipulation de nos variables indépendantes et en mettant en place une standardisation/homogénéisation des procédures de recrutement. Cependant, cette standardisation est imparfaite car la manipulation des variables indépendantes s'effectue par plusieurs médecins

impliqués dans l'expérimentation. Ainsi, le lien de causalité entre les variables indépendantes et le critère de jugement peut être influencé par le comportement individuel de chacun des médecins au sein de l'étude (manière de présenter les choses, enthousiasme, scepticisme, etc.) et la différence de prise en charge qui en résulte, et par l'interprétation que la patiente en fait.

- Les variables qui sont propres aux participantes (leur ressenti, leur histoire personnelle, leur intérêt pour l'étude, leur état émotionnel du jour, etc.) sont peu contrôlables et auront donc également une influence sur les résultats.
- Le questionnaire est rempli par chaque patiente en présence d'un médecin (co-)investigateur. Même si cela réduit le biais méthodologique, cela induit toutefois un risque de biais de désirabilité sociale où la patiente cherchera à répondre aux questions de manière à faire transparaître une image « positive » d'elle-même qui répond à ce qu'elle pense être « socialement acceptable » par le médecin présent. Il pourrait ainsi y avoir une surévaluation de ce qui paraît valorisant et, au contraire, une sous-évaluation de ce qui semble dévalorisant. D'autant plus que certaines questions abordent, de manière directe, le comportement sexuel des patientes.

La validité externe de l'étude diminue car :

- L'étude fait face à un biais de recrutement : étant donné qu'elle s'adresse à chaque patiente répondant aux critères d'inclusion, quelle que soit sa raison primaire de consultation, il se peut que les (co-)investigateur(s) n'aient pas toujours le temps d'expliquer l'étude aux patientes (retard, consultation longue, étude inappropriée au sein d'une consultation difficile, etc.). Il y a alors une « sélection » qui se fait par les médecins. Pour pallier ce biais et essayer d'avoir un recrutement le plus large possible, nous avons instauré la possibilité de faire revenir la patiente pour parler de l'étude au sein d'une autre consultation. Cependant, cela instaure également un biais de participation (avec une diminution de la validité interne) car les patientes seront dès lors potentiellement mieux sensibilisées et donc influencées dans leur participation.

- Nous utilisons des critères d’inclusion et d’exclusion pour le recrutement dans l’étude. Cela signifie que toutes les patientes entre 30 et 64 ans qui consultent au cabinet, ne seront pas incluses dans l’étude.
- En raison de la barrière linguistique, nous faisons également face à un autre biais de recrutement : les femmes ne comprenant et/ou ne maîtrisant pas bien la langue française risquent d’être sous-représentées au sein de notre échantillon de population.

7. Conclusion

En Belgique, la politique de dépistage actuelle ne protège pas suffisamment la population cible car :

- Le dépistage est opportuniste (en Belgique francophone) **[2]** ;
- Malgré l’accessibilité au dépistage du CCU, son taux de couverture est sous-optimal, en particulier en Belgique francophone, à cause de certaines barrières qui freinent la participation des femmes **[2]** ;
- Malgré les recommandations européennes et du KCE sorties en 2015 **[7,11]**, la Belgique n’a pas encore intégré le test HPV comme premier test de dépistage primaire dans son programme ;
- La politique de dépistage actuelle a une approche « taille unique » qui ne tient pas compte des facteurs de risque individuels pour définir ce qui est le plus adapté à la population en termes de méthode de dépistage, de suivi des cas positifs et de traitement. Le programme de dépistage cible donc les populations à haut risque de manière peu efficace. **[4-6]**

De plus, la protection offerte par le vaccin anti-HPV et l’apparition des premières générations de femmes vaccinées au sein de la population cible sont de nouveaux éléments qui viennent complexifier le dépistage tel qu’on le connaît aujourd’hui. De nouvelles recommandations qui intègrent la vaccination au cœur du dépistage du CCU devraient être développées et

régulièrement mises à jour en fonction des données et preuves qui sont apportées par les études en cours. **[4-6]**

Enfin, la pandémie à COVID-19 a également perturbé l'organisation de l'ensemble des soins de santé et a interrompu les programmes de dépistage et de prévention contre le cancer. Cette interruption a bien sûr un impact encore plus important sur les populations de femmes à haut risque. Les contraintes budgétaires engendrées par la pandémie nous invitent à mettre en place des politiques de dépistage plus efficaces, plus efficientes et qui suivent strictement les recommandations actuelles, avec pour priorité de cibler les populations à haut risque sous-dépistées afin de limiter les conséquences de la pandémie sur ces populations. **[5]**

Ces différents éléments qui constituent le contexte actuel encouragent l'élaboration de nouvelles lignes directrices pour le dépistage du CCU basées sur les risques, dans le but d'obtenir un effet protecteur plus important pour les populations de femmes à haut risque, d'atteindre une meilleure efficacité, plus d'efficience et de favoriser la participation au dépistage. **[5]**

Dans la recherche d'une efficience augmentée, le test HPV représente un avantage non-négligeable. En effet, selon le KCE, le dépistage par test HPV est plus « coût-efficace » que le dépistage par Pap-test : il diminue l'incidence et la mortalité par CCU et l'allongement de l'intervalle de temps entre les tests de dépistage permet de réaliser des économies. **[11]**

L'utilisation de kits d'auto-prélèvement semble prometteuse pour atteindre les femmes sous-dépistées et plus à risque de développer un CCU. Cela rend l'auto-prélèvement intéressant dans l'établissement de programmes de dépistage centrés sur les risques. **[5,7]** Par ailleurs, au vu de la situation pandémique actuelle, la possibilité de réaliser un test de dépistage à domicile sans fréquenter les structures de soin de santé donne à l'auto-prélèvement un avantage non négligeable. **[5,31]**

Par son approche non-invasive, le prélèvement urinaire semble être la méthode d'auto-prélèvement préférée des femmes. **[8,22,24-28]** Son utilisation à plus large échelle nécessite cependant des études complémentaires pour définir 1) le matériel à utiliser pour la collecte

d'urines ; 2) la technologie moléculaire à employer pour l'analyse de l'échantillon ; 3) la méthode de distribution des kits la plus « coût-efficace » ; 4) l'algorithme de triage des tests HPV positifs le plus accepté, sécurisé et efficace, pour la population belge. **[8,29]**

Les médecins généralistes peuvent accéder aux informations sur la participation, les facteurs de risque et le statut vaccinal de leurs patientes. Cela représente un atout majeur car, via cette première ligne de soins, il serait possible d'identifier les populations de femmes à haut et bas risque de CCU, et ainsi adapter le dépistage aux besoins de ces populations. Par conséquent, les médecins généralistes ont un rôle primordial à jouer dans l'établissement de nouvelles politiques de dépistage basées sur les risques et dans la conception de programmes d'auto-prélèvement adaptés à la population cible. **[8]** Des études pilotes au sein de la première ligne de soin, telles que celle-ci et l'étude BELGSSAR, constituent des premiers pas pour une analyse de la population vers un changement de la politique de dépistage en Belgique.

8. Bibliographie

- 1) World Health Organisation, International Agency for Research on Cancer (IARC), Global Cancer Observatory (GCO) [Site web]. 2020.
Disponible sur : <https://gco.iarc.fr/today/home> (consulté le 10 mai 2021)
- 2) Fabri, V., El Maâti, A., Arbyn, M., Simoens, C., Haelens, A., De Brabander, I. **Dépistage du cancer du col de l'utérus 2008-2017: quatrième rapport de l'agence Intermutualiste**. Bruxelles : Agence Intermutualiste en collaboration avec le Centre du cancer, Sciensano et la Fondation Registre du cancer ; décembre 2019.
- 3) World Health Organisation, International Agency for Research on Cancer (IARC), Global Cancer Observatory (GCO) [Site web]. 2020.
Disponible sur : <https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/> (consulté le 10 mai 2021)
- 4) European Union Horizon 2020, Risk-based Screening for Cervical Cancer [Site web]. 2021.
Disponible sur : <https://www.riscc-h2020.eu/> (consulté le 14 mai 2021)
- 5) Arbyn, M., Gultekin, M., Morice, P. & al. **The European response to the WHO call to eliminate cervical cancer as a public health problem**. Int. J. Cancer ; 2021. 148: 277–284.
- 6) Arbyn, M., Weiderpass, E., Bruni, L., de Sanjosé, S., Saraiya, M., Ferlay, J., & Bray, F. **Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018 : a worldwide analysis**. The Lancet Global Health, 2020, 8(2):e191-e203.
- 7) Anttila, A., Arbyn, M., De Vuyst, H. & al. **European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening : Second edition, Supplements**. Luxembourg : Office for Official Publications of the European Union ; 2015. pp. XIII–XXIV, pp. 1–68. et pp. 69–108.
- 8) Arbyn, M., Peeters, E., Benoy, I. & al. **VALHUDES : a protocol for validation of human papillomavirus assays and collection devices for HPV testing on self-samples and urine samples**. Journal of Clinical Virology, 2018, 107:52-56.
- 9) European Commission. **European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening : second edition**. Luxembourg : Office for Official Publications of the European Communities ; 2008:291.
- 10) Sorée N. Dépistage du cancer du col utérin en région bruxelloise « L'utilisation d'un test HPV obtenu par auto- prélèvement tous les cinq ans chez les femmes âgées de 30 à 64 ans de notre patientèle ne participant pas ou insuffisamment au dépistage opportuniste actuel du cancer du col de l'utérus en région bruxelloise rendrait-il le dépistage plus accessible et augmenterait-il leur compliance ? ». UCLouvain, 2019.
- 11) Arbyn, M., Haelens, A., Desomer, A. & al. **Quel dépistage pour le cancer du col ? - synthèse**. Health technology Assessment (HTA). Bruxelles : Centre Fédéral d'Expertise des soins de Santé (KCE) ; 2015.
- 12) Yeh, P. T., Kennedy, C. E., De Vuyst, H., & Narasimhan, M. **Self-sampling for human papillomavirus (HPV) testing: a systematic review and meta-analysis**. BMJ global health, 2019, 4(3):e001351.

- 13) Koliopoulos, G., Nyaga, V.N., Santesso, N. & al. **Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population.** Cochrane Database of Systematic Reviews, 2017, Issue 8. Art. No.:CD008587.
- 14) Arbyn, M., Verdoodt, F., Snijders, P. J. & al. **Accuracy of human papillomavirus testing on self-collected versus clinician-collected samples: a meta-analysis.** The lancet oncology, 2014, 15(2):172-183.
- 15) Arbyn, M., Smith, S. B., Temin, S., Sultana, F., & Castle, P. **Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated meta-analyses.** Bmj, 2018, 363
- 16) Depuydt, C. E., Benoy, I. H., Beert, J. F., Criel, A. M., Bogers, J. J., & Arbyn, M. **Clinical validation of a type-specific real-time quantitative human papillomavirus PCR against the performance of hybrid capture 2 for the purpose of cervical cancer screening.** Journal of clinical microbiology, 2012, 50(12):4073–4077.
- 17) Palefsky, J.M., Cranston, R.D. **Virology of human papillomavirus infections and the link to cancer.** UpToDate. (consulté le 18 avril 2021)
- 18) Dijkstra, M. G., van Zummeren, M., Rozendaal, L. & al. **Safety of extending screening intervals beyond five years in cervical screening programmes with testing for high risk human papillomavirus: 14 year follow-up of population based randomised cohort in the Netherlands.** Bmj, 2016, 355.
- 19) Stanczuk, G. A., Baxter, G. J., Currie, H. & al. (2017). **Defining optimal triage strategies for hrHPV screen-positive women—an evaluation of HPV 16/18 genotyping, cytology, and p16/Ki-67 cytoimmunochemistry.** Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2017, 26(11):1629-1635.
- 20) Van Keer, S., Pattyn, J., Tjalma, W. A., Van Ostade, X., Ieven, M., Van Damme, P., & Vorsters, A. **First-void urine: A potential biomarker source for triage of high-risk human papillomavirus infected women.** European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology, 2017, 216:1-11.
- 21) Verhoeven, V. **Le test HPV par autoprélèvement est-il aussi fiable que le test HPV effectué par le médecin généraliste ?** Minerva, Analyses brèves, 2019.
- 22) Arbyn, M., & Castle, P. E. **Offering self-sampling kits for HPV testing to reach women who do not attend in the regular cervical cancer screening program.** Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2015, 24(5):769-772.
- 23) Peeters, E., Cornet, K., Devroey, D., & Arbyn, M. **Efficacy of strategies to increase participation in cervical cancer screening: GPs offering self-sampling kits for HPV testing versus recommendations to have a pap smear taken - A randomised controlled trial.** Papillomavirus Research, 2020, 9.
- 24) Van Keer, S., Tjalma, W. A., Pattyn, J., & al. **Human papillomavirus genotype and viral load agreement between paired first-void urine and clinician-collected cervical samples.** European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2018, 37(5):859-869.

- 25) Leeman, A., Del Pino, M., Molijn, A., & al. **HPV testing in first-void urine provides sensitivity for CIN 2+ detection comparable with a smear taken by a clinician or a brush-based self-sample: cross-sectional data from a triage population.** BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology, 2017, 124(9):1356-1363.
- 26) Cadman, L., Reuter, C., Jitlal, M. & al. **A Randomized Comparison of Different Vaginal Self-sampling Devices and Urine for Human Papillomavirus Testing—Predictors 5.1.** Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers, 2021, 30(4):661-668.
- 27) Senkomago, V., Des Marais, A. C., Rahangdale, L., Vibat, C. R. T., Erlander, M. G., & Smith, J. S. **Comparison of urine specimen collection times and testing fractions for the detection of high-risk human papillomavirus and high-grade cervical precancer.** Journal of Clinical Virology, 2016, 74:26-31.
- 28) Ørnskov, D., Jochumsen, K., Steiner, P. H., Grunnet, I. M., Lykkebo, A. W., & Waldstrøm, M. **Clinical performance and acceptability of self-collected vaginal and urine samples compared with clinician-taken cervical samples for HPV testing among women referred for colposcopy. A cross-sectional study.** BMJ open, 2021, 11(3):e041512.
- 29) Van Keer, S., Peeters, E., Broeck, D. V. & al. **Clinical and analytical evaluation of the RealTime High Risk HPV assay in Colli-Pee collected first-void urine using the VALHUDES protocol.** Gynecologic Oncology, 2021.
- 30) Pattyn, J., Van Keer, S., Biesmans, S. & al. **Human papillomavirus detection in urine: Effect of a first-void urine collection device and timing of collection.** Journal of virological methods, 2019, 264:23-30.
- 31) Téblick, L., Van Keer, S., De Smet, A. & al. **Impact of Collection Volume and DNA Extraction Method on the Detection of Biomarkers and HPV DNA in First-Void Urine.** Molecules, 2021, 26(7):1989.
- 32) Vorsters, A., Van den Bergh, J., Micalessi, I., Biesmans, S., Bogers, J., Hens, A., ... & Van Damme, P. **Optimization of HPV DNA detection in urine by improving collection, storage, and extraction.** European journal of clinical microbiology & infectious diseases, 2014, 33(11):2005-2014
- 33) International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. **Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix: collaborative reanalysis of individual data on 8,097 women with squamous cell carcinoma and 1,374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies.** International journal of cancer, 2007, 120(4):885-891.
- 34) International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. **Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16 573 women with cervical cancer and 35 509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies.** The Lancet, 2007, 370(9599):1609-1621.