

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة البليدة 1

Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master 2 en :

Génétique

Thème

**Dépistage et génotypage des papillomavirus à haut risque
(HPV-HR) dans les prélèvements génitaux par PCR en
temps réel**

Soutenu par : -M'CHID HEDJALA Amina

-REZEGUI Sarah

Devant le Jury :

Mme ABDELHOUCINE .A *GRADE MCA* *U.S.D. Blida* *Présidente*

Mme AISSANI .R *GRADE MCB* *U.S.D. Blida* *Examinatrice*

Mme MOHAMMEDI .D *GRADE MCB* *I.P. A* *Promotrice*

Mme SADOUKI .N *GRADE Chargé d'étude* *I.P. A* *Co-Promotrice*

Mr BESSAAD .A *GRADE MCB* *U.S.D. Blida* *Co-Promoteur*

Le 22 /09 /2018

Remerciement

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements
à

Mme ABDELHOUCINE Alia Qui nous a fait l'honneur d'accepter la
présidence de notre jury, Hommages respectueux

Mme AISSANI Radia Qui nous a fait l'honneur de vouloir accepter
d'examiner notre travail, Sincères remerciements

Pr. MOHAMMEDI Dhakia notre promotrice, qui nous a fait l'honneur de
bien vouloir encadrer et diriger notre travail, Je lui adresse ma plus sincère
reconnaissance pour sa bienveillance et le temps qu'il nous a
Accordé

Notre Co- promoteurs **SEDOUKI Nabila** et **Mr BESSAD M^{ed} Amine**

Nos respectables membres de jury qui vont évaluer notre modeste travail

Nos famille qui ont soutenus et encouragés pour poursuivre nos études

Sans oublier nos cher(e)s ami(e)s qui ont toujours été présents pour nos
soutenir

Merci à tous et à toutes...

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance ... Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce travail en témoignage de Mes respects.

A mes parents :

Grâce à leurs amours, leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat

Affectueux et propice à La poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices,

Bien que je ne vous en acquitterai jamais assez

Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant qu'ils seront toujours fier de moi

A mes très chers frères et sœurs que j'aime profondément.

A la famille **M'CHID HEDJALA.**

A tous mes professeures et, plus particulièrement, à et mon promotrice
Mme. MOHAMMEDI Dhakia et notre Co- promoteurs **SEDOUKI Nabila** et
Mr BESSAD M^{ed} Amine

Leur générosité et leur soutien m'oblige de leur témoigner mon profond respect et ma loyale considération.

Mon binôme REZEGUI Sarah, pour son aide très précieuse dans la rédaction de ce travail, mais surtout

Pour la patience dont elle a fait preuve à mon égard ainsi que tous les moments de bonheur qu'elle m'apportés et qu'elle m'apportés encore.

A tous mes précieuses amies Razika, Ibtissam, Amel, Imene, Yemna, Bouchra, Hiba, Naima, soumia, Meryem.

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréable que nous avons passés

Ensembles .veuillez trouver dans ce travail le témoignage d'une fidélité et d'une amitié infinie.



Amina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes sœurs, ma frère et sans oublié mes grand-mères et mes grand-parents que j'aime. A toute ma famille, et mes amis, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

A mon binôme AMINA et toute la famille MCHID HADJALA.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible, je vous dis merci.



Sarah

RESUME

Le cancer du col de l'utérus est, en termes de fréquence, le deuxième cancer touchant les femmes algériennes après le cancer du sein, constitue une cause majeure de la mortalité. Ce cancer est presque toujours causé par une infection par le virus du papillome humain Haut risque (HPV-HR) par 99,8%.

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire herpes virus - papillomavirus et autres de l'Institut Pasteur d'Algérie, annexe sidi Fredj, sur une période s'étalant du 17 Juin 2018 au 22 Septembre 2018,

Les objectifs de cette étude sont :

- Rechercher les différents génotypes d'HPV-HR liées aux lésions du cancer du col utérin,
- Evaluer le haut risque dans la population algérienne,
- Ressortir éventuellement le génotype prédominant parmi des 14 types de papillomavirus.

L'étude a été réalisée par une technique de Biologie moléculaire le PCR en temps réel totalement automatisé, Sur 515 prélèvements génitaux adressée par différentes régions de l'Algérie.

Les tests frottis cervico-utérin, Colposcopie et Biopsie ont été réalisés au paravent, par un taux de 98,6% des femmes qui ont bénéficié d'un frottis cervico-utérin (FCU), 70,7% d'une colposcopie et 37,1 % d'une biopsie pour une étude anatomo-pathologique.

La sensibilité et la spécificité dépendent uniquement des qualités du test (et éventuellement de l'opérateur).

Elles dépendent du contexte clinique (probabilité pré-test, prévalence) et des caractéristiques – sensibilité et spécificité – de l'examen.

L'âge de nos patientes est compris entre 22 et 77 ans avec un moyen d'âge de 49 ans.

RESUME

Les résultats obtenus sur la mesure de la présence de HPV-HR montrent 6,2% des positifs pour les 515 patientes.

Mots clés : Cancer du col utérin, Dépistage, Frottis cervicaux utérin (FCU), Infection à HPV, Génotypage;

ABSTRACT

The high-risk Papillomavirus infection may subsequently develop into cervical cancer, which is a major cause of mortality among Algerian women after breast cancer.

Papillomaviruses are not cultivable and serology is not feasible. Molecular biology (PCR) research from biopsy or mucocutaneous sampling allows diagnosis and genotyping.

Our study was carried out at laboratory level herpes virus - papillomavirus and others of the Institut Pasteur of Algeria annex sidi Fredj, over a period stretching from June 17, 2018 to September 22, 2018, out of 515 patients.

The objectives of this study are: - Look for different genotypes of HPV-HR related to cervical cancer lesions, - To evaluate the high risk in the Algerian population, - To possibly leave the prevailing genotype.

The study was performed using a fully automated real-time PCR (Roche) technique.

This study concerns 388 retrospective work samples and 127 prospective work samples intended for different regions of Algeria. For these samples, a high-risk HPV virus detection was performed, as well as the genotyping of the 14 papillomavirus types (particularly 16 and 18).

Women, who come for the HPV test, are already doing FCU, Colposcopy or Biopsy tests.

Sensitivity and specificity only depend on the qualities of the test (and possibly the operator).

They depend on the clinical context (pre-test probability, prevalence) and characteristics - sensitivity and specificity - of the examination.

The age of our patients is between 22 and 77 years with a mean age of 49 years.

ABSTRACT

The results obtained on the measurement of the presence of HPV show 6.2% that patients are positive for the 515 patients.

Key words: Cervical cancer, HPV infection, Uterine cervical smear (FCU), Genotyping.

قد تتطور الإصابة بفيروس الورم الحليمي البابلوما البشري عالي الخطورة لاحقاً إلى سرطان عنق الرحم ، وهو سبب رئيسي للوفيات عند النساء في الجزائر بعد سرطان الثدي.

فيروسات البابلوما غير قابلة للزراعة ولا تعتبر الأمصال مجدبة, إن بحوث البيولوجيا الجزيئية (PCR) عن طريق أخذ العينات من الجلد أو أخذ العينات من المخاط تسمح بالتشخيص و ابحت عن أهم التراكيب الوراثية لهذا الفيروس.

أجريت دراستنا على فيروس البابلوما المختبري - فيروس الورم الحليمي (Papillomavirus) وغيرها في معهد باستور , بالجزائر ، الملحق سيدي فرج ، خلال فترة تمتد من 17 جوان 2018 إلى 22 سبتمبر 2018 ، علي 515 مريضة.

أهداف هذه الدراسة هي:

- ابحت عن تراكيب وراثية مختلفة من فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة المرتبطة بسرطان عنق الرحم ،
 - لتقييم المخاطر العالية في الجزائر ،
 - البحث النمط الجيني السائد.
- تم تنفيذ الدراسة باستخدام تقنية PCR الألي في الوقت الحقيقي.

تناولت هذه الدراسة 388 عينة عمل علي الملفات الطبية و 127 عينة عمل تطبيقي مستقبلية من مناطق مختلفة من الجزائر ، ولهذه العينات تم إجراء الكشف عن فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة بابلوما ، بالإضافة إلى ابحت عن تراكيب وراثية 14 صنف لفيروس الورم الحليمي البشري (خاصة 18 16).

النساء اللواتي يأتين لاختبار فيروس الورم الحليمي البشري ، يقومون بالفعل بإجراء فحوصات عن طريق دراسة تغير الخلايا أو الكشف بالمنظار أو الخزعة.

تعتمد الحساسية والخصوصية فقط على صفات الاختبار (وربما المشغل).

وهي تعتمد على السياق السريري (احتمالية الاختبار المسبق ، الانتشار) والخصائص - الحساسية والخاصية - للفحص.

يمتد سن المرضي بين 22 و 77 سنة بمتوسط عمر 49 سنة.

النتائج التي تم الحصول عليها بعد قياس وجود فيروس الورم الحليمي البشري تظهر 6.2 % إيجابية من بين 515 مريضة.

الكلمات المفتاحية: سرطان عنق الرحم ، عدوى فيروس الورم الحليمي البشري بابلوما ، مسحة عنق الرحم ، التتميط الجيني.

LISTE DES FIGURES

Numéro de figure	Titre	Numéro de page
Figure 1	Structure de différents papillomavirus humains au MET	03
Figure 2	Représentation d'une particule virale de HPV : modèle atomique de la capside et modèle schématique	04
Figure 3	Organisation du génome d'HPV de type 16	05
Figure 4	Structure des papillomavirus et fonction des protéines virales	05
Figure 5	L'arbre phylogénétique des Papillomavirus	07
Figure 6	Cycle cellulaire des Papillomavirus	09
Figure 7	Cycle cellulaire et sa régulation	11
Figure 8	Évolution du niveau du facteur stimulant la mitose (MPF) au cours du cycle cellulaire	12
Figure 9	Contrôle du cycle cellulaire et régulation des activités des complexes cdk/Cycline	13
Figure 10	Rôles physiologiques de la protéine p53	14
Figure 11	Facteurs de risques du cancer col de l'utérus	15
Figure 12	Mode d'inhibition des défenses antivirales cellulaires par les protéines virales E6 et E 7	22
Figure 13	Physiopathologie de l'infection et réponse immune naturelle au cours de l'infection par un HPV	24
Figure.14	Schéma descriptif de l'utérus	25
Figure 15	Épithélium pavimento-cylindrique	26
Figure 16	Histoire naturelle de l'infection à HPV oncogène liée au cancer du col de l'utérus	27
Figure 17	Chevauchements diagnostiques dans les CIN	29

LISTE DES FIGURES

Figure 18	Coopération des protéines E6, E7 et E5 des HPV muqueux génitaux dans la persistance virale et l'oncogénèse virale	32
Figure 19	Influence de l'oncoprotéine virale E6 sur la protéine p53 et voie de réponse aux lésions de l'ADN	34
Figure 20	Influence de l'oncoprotéine E7 sur les protéines pRb et p107	35
Figure 21	Réactivation transcriptionnelle de la sous-unité hTERT de la télomérase par l'oncoprotéine virale E6	36
Figure 22	Principales étapes de la technique Hybrid Capture 2	38
Figure 23	Principe de la PCR en temps réel	40
Figure 24	Gardasil, vaccin Anti-HPV type 6, 11, 16, 18	41
Figure 25	Développement du vaccin prophylactique GARDASIL® contenant les VLP-L1 des HPV de type 6, 11, 16 et 18, protéines chimères exprimées au sein de <i>S. cerevisiae</i>	42
Figure 26	Étapes de synthèse d'un vaccin prophylactique basé sur les VLP-L1	42
Figure 27	Fenêtre de logiciel de système Cobas 4800	45
Figure 28	Commende de chargement des réactifs HPV MMX et HPV Mg/Mn et les contrôles HPV (+) C et (-) C et la PK	46
Figure 29	Fenêtre de logiciel de système COBAS 4800 représente le graphe des résultats de détection des génotypes d'HPV haut risque	48
Figure 30	Fenêtre de logiciel de système COBAS 4800 représente le tableau des résultats de détection des génotypes d'HPV haut risque	48
Figure 31	Mécanisme de l'émission de fluorophore	49
Figure 32	Répartition des 515 prélèvements des femmes	51

LISTE DES FIGURES

	adressées par différents centres médicaux de santé publique ou de médecins libéraux	
Figure 33	Répartition des 513 patientes en fonction de l'âge	52
Figure 34	Nombre de grossesses des femmes dépistées	53
Figure 35	Exploitation des renseignements cliniques par examen effectué	54
Figure 36	Résultats du test HPV dans les prélèvements cervicaux	55
Figure 37	Répartition des génotypes d'HPV haut risque (16, 18 et autres) seuls et associés	56
Figure 38	Nombre des prélèvements cytologique en fonction de l'âge	58
Figure 39	Résultats global du test HPV selon le FCU	59
Figure 40	Résultats du génotypage d'HPV selon le FCU	61
Figure 41	Résultats du test HPV selon la colposcopie	63
Figure 42	Répartition des 189 prélèvements cervicaux en fonction de la détection des HPV-HR et du grade de lésion révélé par l'examen Histologique	66
Figure 43	L'effectif positif et négatif pour les résultats de l'examen Histologique	66
Figure 44	Protocole de suivi pour le dépistage actuel	67

LISTE DES TABLEAUX

Numéro de tableau	Titre	Numéro de page
Tableau I	Rôle des protéines des Papillomavirus à haut risque	06
Tableau II	Classification des HPV selon leur potentiel oncogène	08
Tableau III	Classification des Papillomavirus humains et lésions associées	20
Tableau IV	Relation entre le type et le tropisme viral	21
Tableau V	Caractéristiques de différents tests HPV	37
Tableau VI	Types de détection et génotypes détectés avec des trousse commerciales de génotypage des HPV	39
Tableau VII	Provenance des 515 prélèvements génitaux	50
Tableau VIII	Nombre de grossesses et de parités pour les femmes dépistées	53
Tableau IX	Résultats du génotypage HPV HR par PCR en temps réel	56
Tableau X	Résultats du test HPV dans le FCU	59
Tableau XI	Résultats du génotypage d'HPV dans le FCU	60
Tableau XII	Résultats du test HPV selon la colposcopie	62
Tableau XIII	Génotypage d'HPV selon la colposcopie	64
Tableau XIV	Résultats de l'examen histologique en fonction de l'HPV	65

ABREVIATION

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

HPV: Papillomavirus humain

HR-HPV: High risk human papillomavirus

CDK: Cyclin dependant kinase

CIN: Cervical intraepithelial neoplasia

CIN1: Cervical intraepithelial neoplasia 1

CIN3: Cervical intra-épithélial neoplasia 3

CIN2: Cervical intraepithelial neoplasia 2

CRPV : Cottontail Rabbit papillomavirus (lapin)

E : Early (gène précoce)

JPC : jonction pavimento-cylindrique

E2F : Facteur de transcription

FCU : Frottis cervico uterin

HSIL: High grade squamous intraepithelial lesion

INF: Interferon.

L: Late (region Tardif)

LCR : Long control région

P53 : Protéine gardien du génome, Protéine cellulaire de 53,000 daltons

PRb : Protéine du gène du retinoblastome

POL : phases ouvertes de lecture

IARC: International Agency for Research on Cancer

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES	
I.1 CARACTERISTIQUES DE VIRUS HPV	2
I.1.1 Historique.....	2
I.1.2 Structure des HPV	2
I.1.2.1 La capside	3
I.1.3 Organisation génomique.....	4
I.1.4 Les propriétés biologiques des protéines virales	5
I.1.5 Présentation phylogénétique des Papillomavirus.....	6
I.1.6 Classification des Papillomavirus humains.....	7
I.1.6.1 Classification basé sur la séquence génomique.....	7
I.1.6.2 Classification basée sur le tropisme.....	7
I.1.6.3 Classification basée sur le potentiel oncogène.....	7
I.1.7 Types de Papillomavirus humains.....	8
I.1.8 Cycle viral de l'HPV.....	9
I.1.8.1 Cycle productif (REPLICATION).....	9
I.1.8.2 Cycle intégratif.....	10
I.1.9 Cycle cellulaire et sa régulation.....	11
I.1.10 Mode de transmission.....	14
I.1.11 Facteurs de risques persistants de l'infection à HPV.....	14
I.1.12 Potentiel oncogène.....	17
I.1.13 Conséquences.....	17
I.1.14 Tropisme du virus HPV.....	19
I.1.15 Réponse immunitaire contre l'infection par HPV.....	21
I.2 Cancer du col de l'utérus.....	24
I.2.1 Définition le mot cancer.....	24
I.2.2 Définition du cancer du col de l'utérus.....	24
I.2.3 Anatomie.....	24
I.2.4 Histologie.....	25
I.2.5 Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus.....	26
I.2.6 Infection par des HPV haut risque.....	26

TABLE DES MATIERES

I.2.6.1	Progression des lésions cervicales précancéreuses.....	26
I.2.6.2	Progression vers un cancer invasif.....	27
I.2.7	Lésions cervicales précancéreuses.....	28
I.2.8	Les facteurs carcinogènes.....	29
I.2.9	Mécanisme de la carcinogénèse.....	30
I.2.9.1	HPV génitaux muqueux.....	30
I.2.9.2	HPV Cutanés.....	36
I.2.10	Détection qualitatif du génome viral de l'HPV.....	37
I.2.10.1	Techniques de dépistage dites tests HPV.....	37
I.2.10.2	Hybridation en phase liquide ou Hybrid Capture®	38
I.2.10.3	PCR en temps réel ou RT PCR technique de diagnostic récente pour la détection des protéines virales des HPV.....	39
I.3	Les vaccins anti-HPV.....	41
I.3.1	Vaccin prophylactique.....	41
I.3.2	Vaccin thérapeutique.....	42
CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES		
II.1	MATERIEL.....	43
II.1.1	LIEU ET DUREE DU TRAVAIL.....	43
II.1.2	Matériel non biologiques.....	43
II.1.3	Réactifs.....	44
II.2	METHODE.....	44
II.2.1	Préparation des échantillons.....	44
II.2.2	Vérification et contrôle du Cobas.....	45
II.2.3	Préparation des réactifs et lecture des code-barre des réactifs.....	45
II.2.4	Réglage du système et choix de types de analyses « HPV High Risk Panel Plus Genotyping ».....	45
II.2.5	Chargement des contrôles HPV(+) C et HPV(-) sur le portoir des réactifs au cours du chargement de réactifs.....	46
II.2.6	Extraction de l'ADN.....	47
II.2.7	Amplification et à la détection des ADNcibles.....	47
II.2.8	La détection d'ADN amplifié (amplicon) et interprétation des résultats.....	47
CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION		
III.1	Provenance des prélèvements.....	50
III.2	Répartition des prélèvements selon l'âge.....	51

TABLE DES MATIERES

III.3	Nombre de grossesse et de parités des patientes dépistées.....	52
III.4	Exploitation des renseignements cliniques des patientes dépistées.....	54
III.5	Résultats du test HPV dans les prélèvements génitaux.....	55
III.5.1	Résultats du géotypage HPV par PCR en temps réel.....	56
III.5.2	Résultats du test HPV dans les prélèvements étudiées par la cytologie.....	57
III.5.3	Résultats d'HPV dans les prélèvements étudiées par la cytologie en fonction de l'âge.....	57
III.5.4	Résultats du test HPV selon le FCU.....	58
III.5.5	Résultats des géotypes d'HPV selon le FCU.....	60
III.5.6	Résultats du test HPV selon la colposcopie.....	62
III.5.7	Résultats du géotypage d'HPV selon la colposcopie.....	64
III.5.8	Résultats du test HPV dans les prélèvements étudiés par l'Histologie.....	65
	CONCLUSION.....	68
	REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUES.....	70
	ANNEXE	

Le cancer du col de l'utérus est une pathologie d'origine infectieuse. Il est au deuxième rang des cancers chez la femme dans le monde en termes d'incidence et au premier rang en termes de mortalité, principalement dans les pays en voie de développement et qui est certainement secondaire à une infection virale par le papillomavirus humain HPV (Duport, 2008). En Algérie, le cancer du col se place en deuxième position après celui du sein avec une incidence de 10,4 causes de mortalité féminine (Globocan, 2008).

Le Papillomavirus est un virus très courant qui se transmet sexuellement. La plupart des nouvelles infections s'éliminent spontanément, mais quand elles persistent, elles peuvent entraîner le développement de lésions précancéreuses qui, si elles ne sont pas traitées, sont susceptibles d'évoluer en cancer (Baldauf et al., 2007).

Beaucoup de pays ont mis en place un programme de dépistage, (Monsonogo, 2007). Un programme national, de dépistage a été lancé en 2001 dont le but escompté est de contribuer à l'amélioration des indicateurs de la santé de la reproduction, par la réduction sensible de la mortalité féminine liées au cancer du col et à l'incidence des formes infiltrâtes (MSP, 2001).

La stratégie de dépistage basé sur la cytologie est la technique la plus répandue permettant de dépister les lésions précancéreuses. Elle a permis de diminuer l'incidence des cancers invasifs et la mortalité dans la plupart des pays [(OMS, 2007) ; (Diouri, 2008)]. Cette technique basée sur l'œil nu humain pour l'interprétation a présenté des limites, ce qui permet de préciser l'intérêt du test d' HPV. Il fournit une plus grande sensibilité qu'un suivi cytologique (Blanc, 2005).

Pour toute ces raison et dans le but d'étudier dans une population minime la situation de l'infection par le HPV, nous nous somme tracé cet objectif de dépistage du HPV-HR et rechercher, par PCR temps réel, les différents génotypes d'HPV HR liées aux lésions du cancer du col utérin et évaluer le haut risque dans la population algérienne, et Ressortir éventuellement le génotype prédominant.

I.1 CARACTERISTIQUES DE VIRUS HPV :

I.1.1 Historique

En 1933, Shope et Hurst ont isolé l'ADN de CRPV (cottontail rabbit papillomavirus) à partir d'une verrue de lapin, mettant en évidence le lien entre les papillomes cutanés observés chez les lapins et une infection virale. Par la suite, les papillomavirus humains (HPV) ont été découverts, à l'origine de tumeurs épithéliales bénignes : les papillomes cutanés (verrues) et muqueux (condylomes acuminés). Durant les années 1960 à 1970, les données épidémiologiques montrent que la maladie est transmise par contact sexuel et inspirent la recherche pour identifier un agent microbien comme facteur étiologique des néoplasies cervicales.

Dans les années 1980, l'attention s'est portée progressivement vers le HPV, avec de solides évidences issues de la biologie moléculaire impliquant certains types de virus comme agents responsables de la transformation cellulaire (*Monsenego, 1988*).

C'est à l'équipe de H. Zur Hausen que revient le mérite d'avoir isolé le HPV de type 16 associé à de nombreux cas de cancer du col de l'utérus (*Zur Hausen, 2009*). En 1983, il découvre au sein de cellules cancéreuses de l'utérus, un nouveau type de papillomavirus, le HPV 16. En 1984, il clone cette souche ainsi que le HPV 18. Le risque relatif de l'association entre le HPV et le cancer du col de l'utérus est de 2 à 3 fois plus élevé que celui d'autres facteurs de risque puissants de cancer (*Bosch, 2003*). En 1995, l'IARC (International Agency for Research on Cancer) classe les HPV-16 et 18 comme agents carcinogènes chez les humains (*IARC, 1995*).

I.1.2 Structure des HPV :

Les virions HPV ne sont pas enveloppés. Ils possèdent une capsidie à symétrie cubique en structure icosaédrique, de 55 nm de diamètre et un ADN bicaténaire, circulaire. Ils se répliquent dans le noyau cellulaire (**Figure 1**). Virus nus, ils sont particulièrement résistants dans le milieu extérieur (froid, solvants organiques, détergents) (*Bernard et al., 2010*).

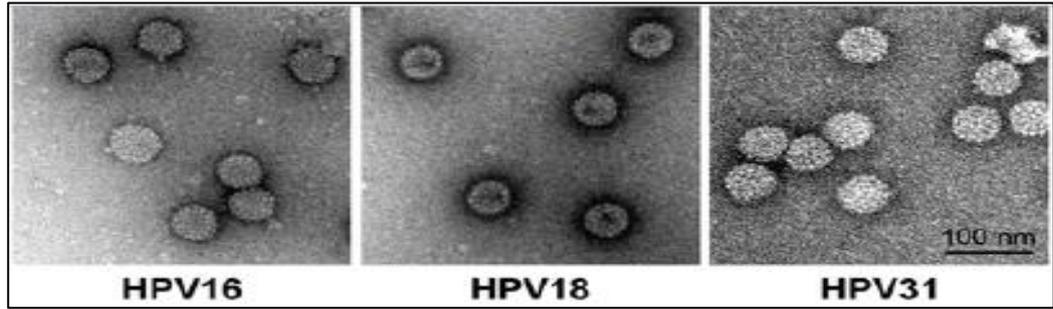


Figure 1: Structure de différents papillomavirus humains au MET (*Spoden et al., 2013*)

I.1.2.1 La capside :

La capside des HPV, à symétrie icosaédrique est constituée de 360 molécules L1 (protéine majeure) en association avec 12 copies de la protéine L2 par virion (**Figure 2**).

Elle comporte 72 capsomères, chacun est formé de 5 protéines L1 et une molécule L2 (*Pereira et al., 2009*).

La protéine L1, est capable à elle seule de s'auto-assembler pour reconstituer une capside synthétique identique à la capside naturelle du virus (*Modis et al., 2002*).

L'assemblage des capsomères se fait grâce à des liaisons ioniques mais aussi par des ponts bisulfures intermoléculaires entre les extrémités C-terminales des protéines L1 entre deux capsomères opposés. La protéine L2 de la capside, dite protéine mineure, joue un rôle secondaire dans l'assemblage du virion. Elle a plutôt, un rôle facilitant l'infection de la cellule hôte (*Buck et al., 2008*).

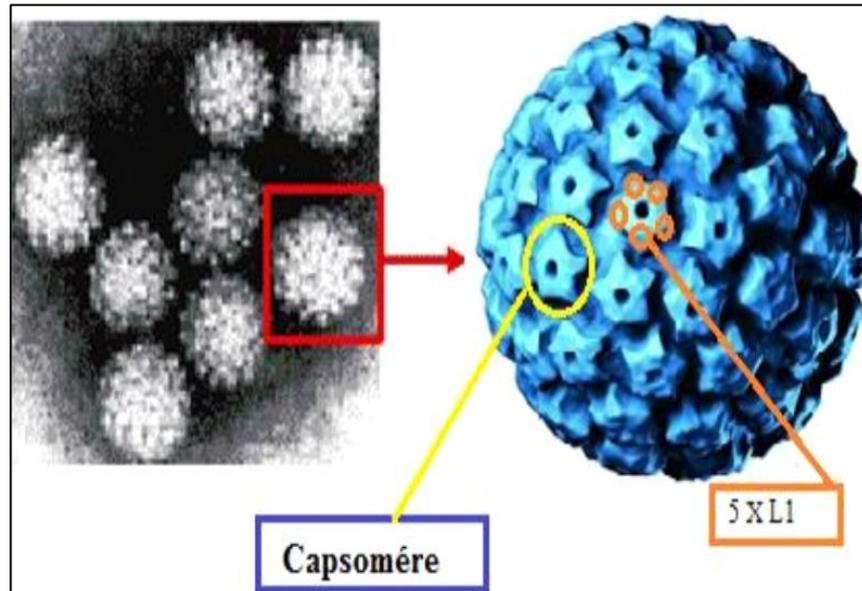


Figure 2 : Représentation d'une particule virale de HPV : modèle atomique de la capsidie et modèle schématique (*Bousarghin, 2009*)

I.1.3 Organisation génomique

Le génome viral est une molécule d'ADN circulaire bicaténaire d'environ 8000 paires de bases dont un seul des brins est codant. Il s'associe avec les histones cellulaires pour former des nucléosomes. Il contient 10 phases ouvertes de lecture (POL) chevauchant et qui sont transcrits en ARN polycistroniques. On distingue trois régions organisées (**Figure 3**) : la région E (<Early>), d'E1 à E8 (d'environ 4 Kpb), la région L (<Late>), L1 et L2 (d'environ 3 Kpb) et la région régulatrice, non codante, LCR (pour <long control region>) de taille comprise entre 400 et 1000 pb.

Cette dernière renferme deux promoteurs majeurs. Le promoteur précoce (p97) initie la transcription en amont du gène E6, alors que le promoteur tardif (p670) se trouve dans la région E7 et s'active durant la phase tardive du cycle viral productif. Les gènes précoces E6, E7, E1 et E2 de l'HPV 16 sont transcrits à l'aide du promoteur précoce. Les protéines E1, E2, E4, E5, L1 et L2 dans le cas du cycle viral productif (lytique) sont transcrits par le promoteur tardif, p670. Les trois régions du génome viral sont séparées par deux sites de polyadénylation un site précoce AE et un site tardif AL (*Mitsuishi et al., 2013*).

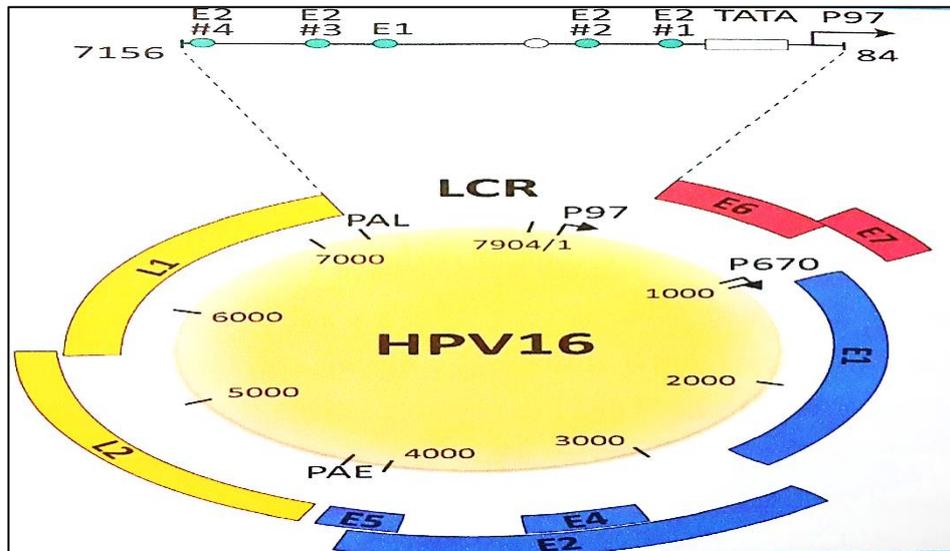


Figure 3 : Organisation du génome d'HPV de type 16 (Burk, 1999)

Le génome viral dans sa forme intégrée (**Figure 4**) : l'intégration au génome cellulaire interrompt la phase ouverte de lecture E2, supprimant la régulation négative de l'expression de E6 et E7 et plaçant E6 et E7 sous contrôle direct de la région de régulation (Spoden et al., 2013)

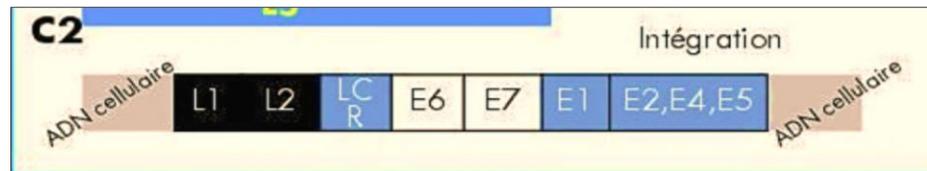


Figure 4 : Structure des papillomavirus et fonction des protéines virales (Spoden et al., 2013)

I.1.4 Les propriétés biologiques des protéines virales :

Les principales protéines précoces responsables de la carcinogénèse sont les protéines E5, E6 et E7.

Les protéines E1 E2 et E4 jouent un rôle dans la réplication virale. Le rôle de toutes ces protéines est présenté sur le **tableau I** :

Tableau. I : Rôle des protéines des Papillomavirus à haut risque (*Monsonogo, 2006*)

Protéine	Fonction
E1	Réplication de l'ADN viral
E2	Réplication, régulation de la transcription
E3	Pas de fonction connue
E4	Maturation des virions
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire
E6	Protéine oncogène, favorise la dégradation de la protéine p53
E7	Protéine oncogène, favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb
E8	Pas de fonction connue
L1	Protéine majeure de capsid
L2	Protéine mineure de capsid

I.1.5 Présentation phylogénétique des Papillomavirus

Les Papillomavirus (du latin papilla, signifiant bouton et du suffixe grec –ome désignant le caractère tumoral) (*Baseman et al., 2005*).

À l'origine regroupés avec les polyomavirus dans la famille des *Papovaviridae*, les Papillomavirus forment aujourd'hui la famille des *Papillomaviridae*. Plus de 120 génotypes sont actuellement connus, certains d'entre eux ont été complètement séquencés. Ainsi, la famille des *Papillomaviridae* est composée de 16 genres (nommés d'alpha à pi et possédant moins de 60% d'identité).

Chaque genre regroupe une à plusieurs espèces de papillomavirus. Parmi les 16 genres, 5 genres correspondent aux Papillomavirus humains. Ce sont les genres alpha, bêta, gamma, mu et nu (**Figure 5**) (*De Villiers, 2004*).

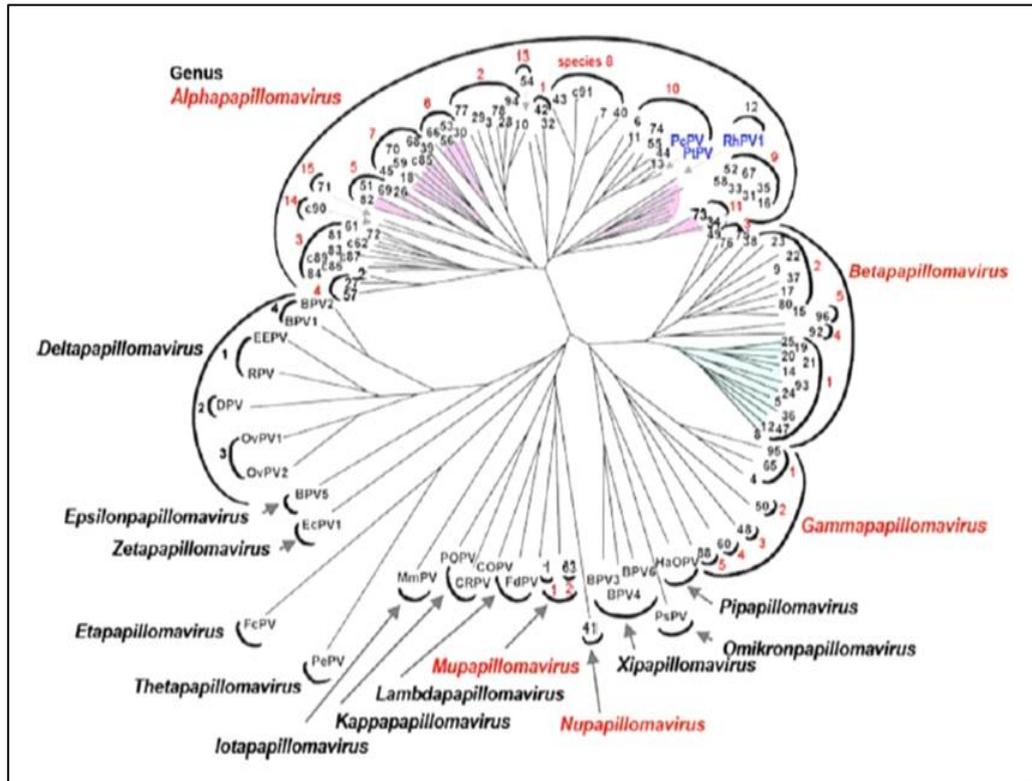


Figure 5 : L'arbre phylogénétique des Papillomavirus (de Villiers, 2013)

I.1.6 Classification des Papillomavirus humains

I.1.6.1 Classification basé sur la séquence génomique

C'est la séquence nucléotidique du gène L1, codant pour la protéine majeure de capside, qui sert de base à la classification des Papillomavirus. Pour qu'un nouveau type d'HPV soit reconnu, il faut que le génome complet du virus ait été séquencé et que sa séquence L1 présente une divergence de plus de 10 % avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement (Segondy, 2008).

I.1.6.2 Classification basée sur le tropisme

On distingue habituellement les types HPV à tropisme cutané et ceux à tropisme muqueux. Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus, alors que les HPV à tropisme cutané appartiennent essentiellement aux genres beta-papillomavirus et gamma-papillomavirus ainsi qu'aux genres mu-papillomavirus et nu-papillomavirus (Segondy, 2008).

I.1.6.3 Classification basée sur le potentiel oncogène

La répartition des principaux types d'HPV en fonction de leur potentiel oncogène représenté dans le **tableau II**. Il est à noter que cette répartition ne

prend en considération que les HPV à tropisme muqueux, cette classification étant basée sur le risque de cancer du col de l'utérus associé à HPV (Segondy, 2013).

Tableau II : Classification des HPV selon leur potentiel oncogène (Segondy, 2008)

Classification	Types
Haut risque	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
Haut risque probable	26, 53, 66, 68, 73, 82
Bas risque	6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89

I.1.7 Types de Papillomavirus humains :

-HPV à bas risque :

Il s'agit le plus souvent des HPV de types 6 et 11 responsables des condylomes acuminés génitaux. On peut également retrouver ces types viraux dans les condylomes et les dysplasies légères dans moins de 30 % des cas. Parce qu'ils ne sont jamais associés au cancer du col, ils sont considérés comme à bas risque (J. Monsonego, 2007).

-HPV à haut risque :

Il s'agit des HPV 16 et 18 le plus souvent. Plus de 18 types viraux sont considérés. Parce qu'on les retrouve associés au cancer du col dans presque 100 % des cas, ces types viraux sont appelés Papillomavirus à risque. On les retrouve essentiellement dans les lésions de bas grade ou CINI (70 %) et dans les lésions de haut grade CINII, III (98 %).

Le site le plus fréquemment concerné par l'infection à Papillomavirus est le col de l'utérus. Ceci tient à la vulnérabilité particulière de la zone de transformation du col. Cependant, le vagin, la vulve, l'anus peuvent plus rarement être le siège de lésions dysplasiques, les virus à risque pénétrant la muqueuse au travers des micro-traumatismes. Le risque de cancer est moins fréquent pour les lésions de la vulve et de l'anus (J. Monsonego, 2007).

I.1.8 Cycle viral de l'HPV
I.1.8.1 Cycle productif (REPLICATION)

Les HPV pénètrent les épithéliums cutanés ou muqueux à la faveur de microlésions et infectent les cellules basales, siège du renouvellement permanent de l'épithélium. Le cycle de multiplication dépend de l'état de différenciation de la cellule (**Figure 6**).

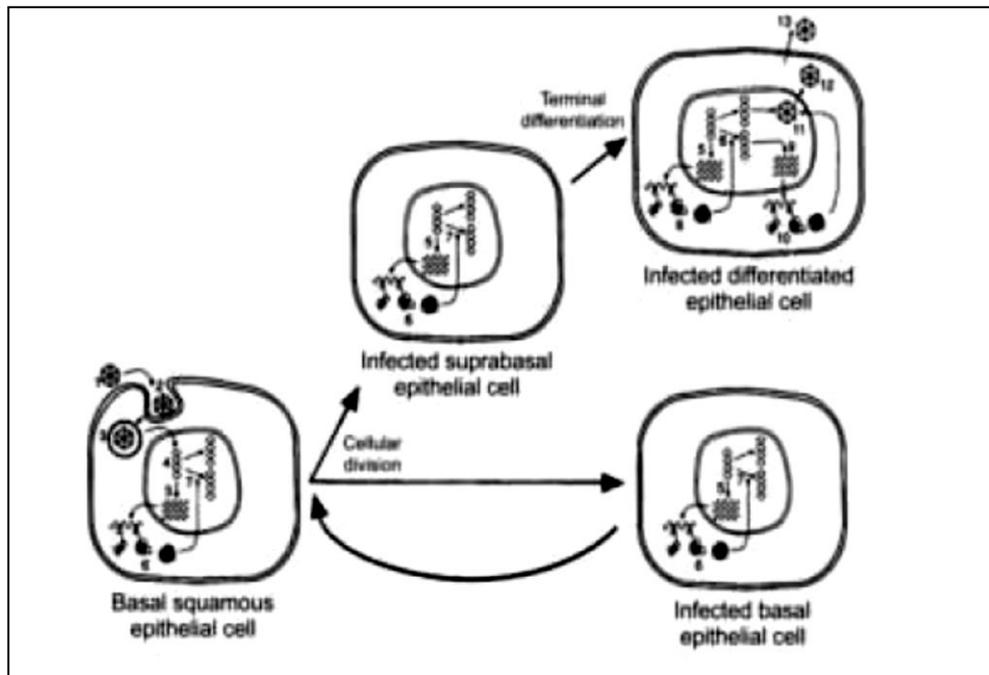


Figure 6 : Cycle cellulaire des Papillomavirus (*Howley al., 2001*)

Après fixation du virus à des récepteurs cellulaires, il y a internalisation du virus

La multiplication virale est étroitement corrélée à la différenciation cellulaire. Au niveau des cellules basales, seuls les gènes précoces sont exprimés. Lors de l'ascension des cellules vers la couche superficielle de l'épithélium, la réplication virale s'intensifie. Celle-ci est secondaire à la liaison d'un complexe E1/E2 au niveau du site *ori*.

Les autres protéines telles que les ADN polymérase/primase, sont fournies par la cellule hôte. Les protéines de capsid L1 et L2 qui sont exprimées tardivement permettent l'encapsidation du génome et la production de virions, lesquels n'étant pas lytiques, sont éliminés par les cellules en voie de

desquamation. Il est important de souligner que les gènes E6-E7 ne sont plus exprimés dans les cellules différenciées, car ils sont contrôlés négativement par la protéine E2 (action trans-inhibitrice d'E2) (*FUCHS et al., 1994*).

Dans un certain nombre de cas, l'infection reste latente, capable sous l'influence de certains facteurs endogènes ou exogènes (immunodépression locale ou générale) d'évoluer vers une infection productive.

Les mécanismes de cette latence ne sont pas encore élucidés.

I.1.8.2 Cycle intégratif

L'intégration de l'ADN viral dans le matériel chromosomique de la cellule infectée est généralement observée dans les cancers invasifs. Elle est rare au stade de dysplasie légère.

Elle concerne les HPV à haut risque (types 16 et 18). Elle implique la linéarisation du génome, par rupture des phases ouvertes de lecture E1/E2 accompagnée de délétions/mutations de séquences E1/E2 et réarrangement du génome viral.

C'est un évènement important de la dérégulation de l'expression des gènes E6-E7. La transcription de ces gènes, n'étant plus réprimée par la protéine E2, est augmentée (*DÜRST et al., 1985*).

Les ARNm E6 et E7 détectés par hybridation *in situ* sont présents sur toute la hauteur de l'épithélium dans les lésions dysplasiques sévères, en quantité beaucoup plus importante que dans les dysplasies légères. En revanche, on ne note pas de différence dans l'expression de ces gènes entre les lésions intraépithéliales de haut grade et les carcinomes.

Quant aux transcrits L1 et L2, ils disparaissent en général au décours de la progression tumorale (*FUCHS et al., 1994*).

Cette intégration de l'ADN viral peut se faire au niveau des sites fragiles, à proximité ou au sein d'oncogènes cellulaires (c-myc par exemple).

Mais des travaux récents suggèrent qu'il n'existe pas de région préférentielle d'intégration (*Wentzensen et al. 1999*).

I.1.9 Cycle cellulaire et sa régulation

Le cycle cellulaire est caractérisé par la succession de deux grades phases, l'interphase et la mitose (**Figure 7**). Subdivisée, à son tour en trois étapes (G1, préparation à la réplication de l'ADN; S, réplication et G2, préparation à la mitose), l'interphase prépare la cellule à la division pour donner deux cellules filles identiques (*KHENCHOUCHE 2014*).

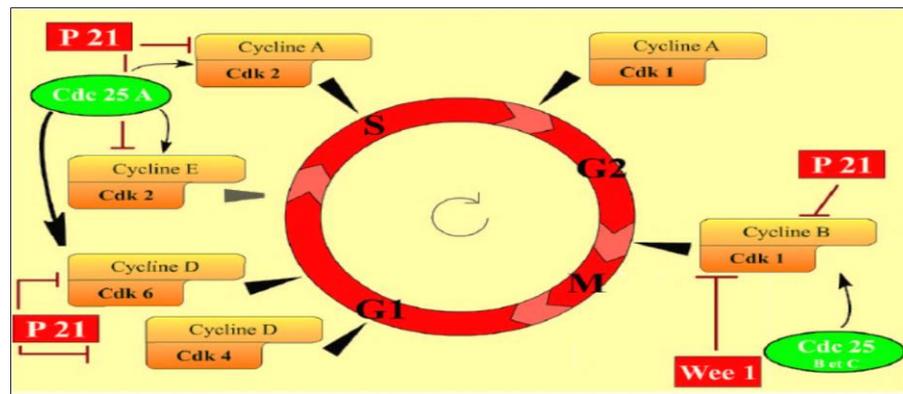


Figure 7: Cycle cellulaire et sa régulation (*Ewen, 1994*) : protéine activatrices en vert, inhibitrice en rouge

La régulation de ce cycle utilise le facteur MPF ("mitosis-promoting factor"), caractérisé au début des années 1990 (*Ewen, 1994*).

Il s'agit d'une kinase cycline-dépendante (Cdk), les cyclines sont leurs sous unités activatrices (**Figure 8**).

A la fin du XXème siècle, une douzaine de Cycline / Cdk sont décrites chez l'homme. Six d'entre elles interviennent dans le contrôle direct du cycle cellulaire. Chaque Cdk agit sur des substrats définis (Figures 7 et 8). (*Abdelhalim 2014*).

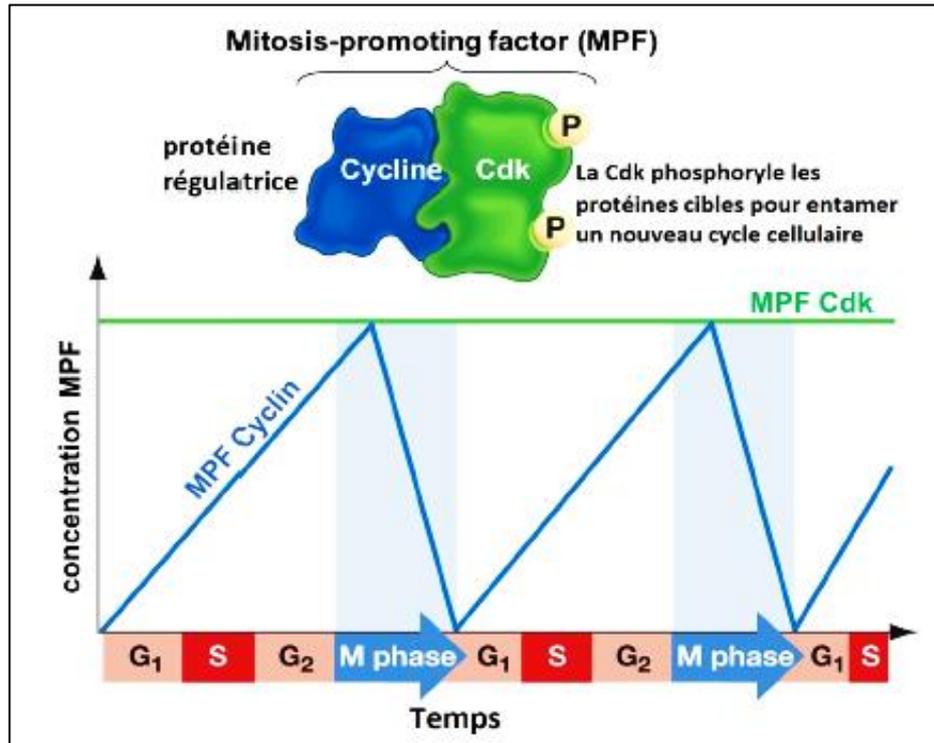


Figure 8 : Évolution du niveau du facteur stimulant la mitose (MPF) au cours du cycle cellulaire (*Humphrey et al, 2005*)

Les Cdk sont des sérine-thréonine kinases, enzymes qui phosphorylent des protéines cibles jouant un rôle dans les événements du cycle cellulaire (fragmentation de l'enveloppe nucléaire, compaction des chromosomes, réplication de l'ADN...), ou dans l'avancement du cycle par libération des facteurs déclenchant la réplication, notamment E2F (*Rohrmann, 2013*). Leur concentration varie avec le temps (**Figure 9**).

Elles transfèrent le groupement -phosphate de l'ATP sur une sérine ou une thréonine, présentes dans ces protéines cibles (la protéine du rétinoblastome, pRb, entre autres), à condition que ses acides aminés (aa) soient dans une séquence spécifiquement reconnue par la kinase (exemple : Ser/Thr-Pro-X-Arg/Lys).

Les Cdk, elles-mêmes, subissent une régulation soit :

- par déphosphorylation "activatrices" à l'aide de phosphatases (comme la Cdc 25). Ces phosphatases sont appelées CAK ("Cdk Activating Kinase") et sont composées de la Cycline H et de la Cdk 7.

- ou par phosphorylation "inhibitrices" à l'aide d'autres kinases notamment Wee-1 qui agit sur Cdk1 en phosphorylant les sites tyrosine 15 et thréonine 14 (Ford et al., 2004) (Figure 9).

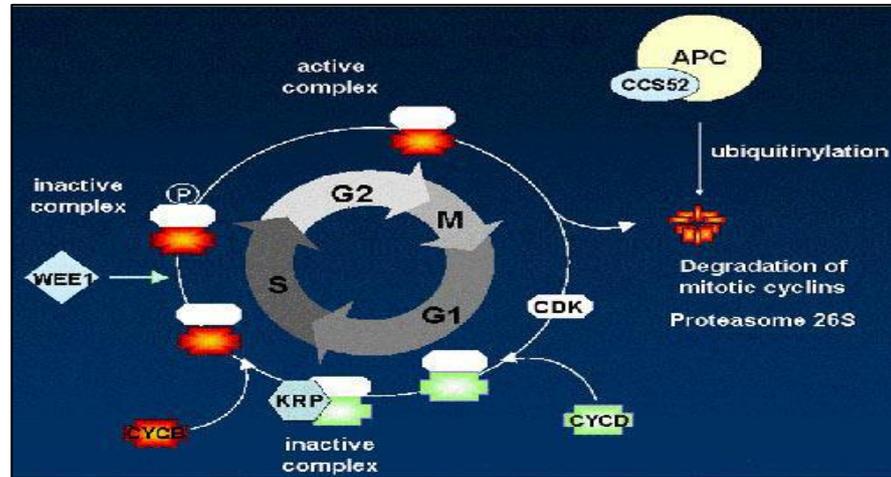


Figure 9 : Contrôle du cycle cellulaire et régulation des activités des complexes cdk/Cycline. (Sherr 1994)

D'autres protéines inhibitrices, les CKI (Cdk Inhibitors : p16, p21, p27) régulent, aussi, le cycle négativement (Neto et al, 2011).

Il faut rappeler que les inhibiteurs des Cdk sont à leur tour activées par l'anti-oncogène p53 (Figure10).

Celui-ci est donc considéré comme un inhibiteur du cycle cellulaire. Il a d'autres rôles très importants, déclenche d'une part l'apoptose des cellules (sénescences ou ayant accumulé des aberrations chromosomiques) ou entame la réparation de l'ADN endommagé (Hoffmann, 2006).

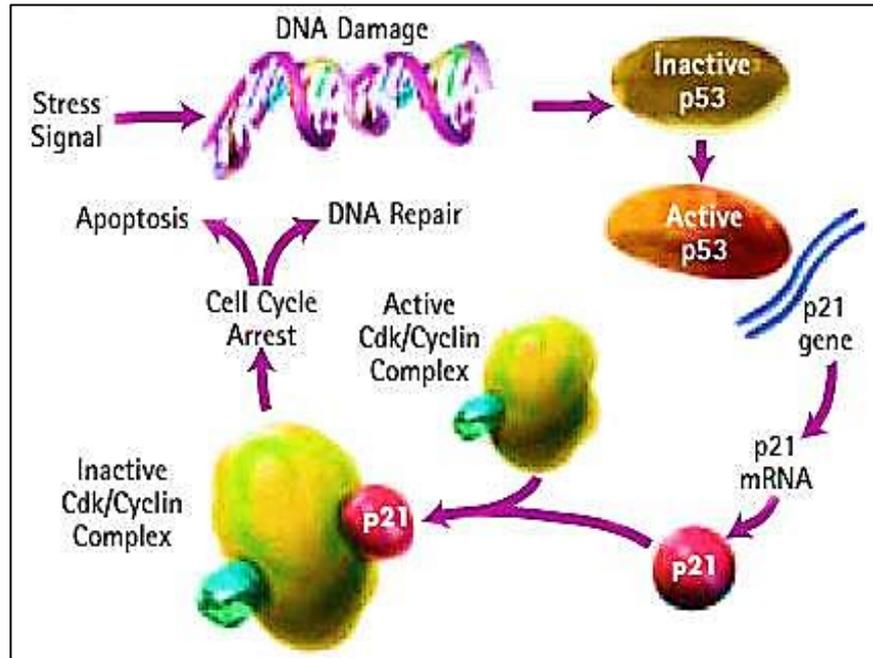


Figure 10 : Rôles physiologiques de la protéine p53 (White E. 1996)

I.1.10 Mode de transmission

La transmission des HPV se fait souvent par :

-Contact direct : à travers les excoriations de l'épiderme ou des muqueuses d'une personne à une autre (hétéro-inoculation) ou du sujet à lui-même (Mougin et al, 2006). L'infection génitale à HPV est transmise par contact sexuel. (Monsonogo, 2006).

-Contacte indirecte : par contact avec des objets et surfaces contaminés (piscines et douche favorisent la propagation des verrues plantaires) (Delloye et al, 2006).

-Il existe au moment de l'accouchement des possibilités de transmission du HPV de la mère au nouveau-né (Monsonogo, 1996).

I.1.11 Facteurs de risques persistants de l'infection à HPV

Ces facteurs sont nombreux ; On a on premier l'âge (pic de fréquence entre 25 et 29 ans). Une régression spontanée est observée dans les 3 ans suivant l'infection dans 90% des cas chez les adolescentes et seulement dans 40 à 60% des cas chez les femmes adultes (KHENCHOUCHE A, 2014).

Ils dépendent l'HPV et son hôte (intensité des lésions cytologiques observées, charge virale) (Dalstein et al., 2003).

Et on a d'autres facteurs qui conduisent à un cancer (**figure11**) ;

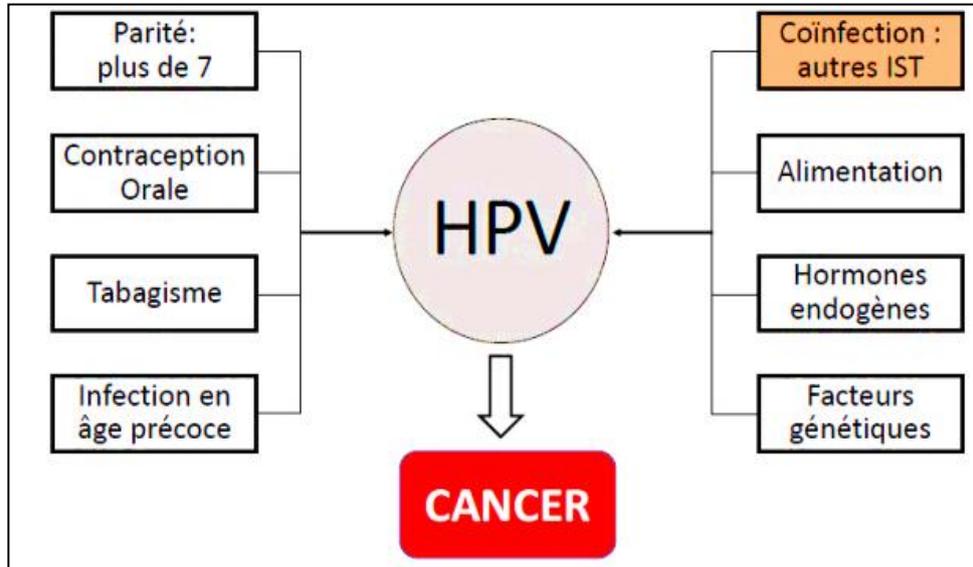


Figure 11 : Facteurs de risques du cancer du col de l'utérus (Luhna et al., 2013)

- **Multiparité:** Il est décrit une augmentation du risque de développement de carcinomes épidermoïdes du col utérin chez les patientes multipares au-delà de 7 grossesses menées à terme. De même, le jeune âge lors d'une première grossesse est un facteur de risque (Hinkula et al., 2004).

- **Contraception hormonale:** L'usage de l'hormonothérapie contraceptive serait lié au développement du cancer du col utérin chez les femmes HPV positives (+). Pour ces femmes, le risque semble être multiplié par 2,42 dès lors qu'elles utilisent une telle contraception pendant au moins 10 ans. Le risque augmente avec la durée d'utilisation et diminue après l'arrêt du contraceptif (Luhna et al., 2013).

- **Toxiques : alcool et tabac :** Le tabagisme passif majore de 2 fois (2X) le risque de développement de cancer du col, probablement en raison des dommages génétiques occasionnés au sein des cellules de l'épithélium cervical.

Le risque diminue mais reste néanmoins présent chez les anciennes fumeuses (Zeng *et al.*, 2012). La consommation alcoolique majore le risque d'infection à HPV, et donc indirectement le risque de cancer du col (Hjartåker *et al.*, 2010).

- **Immunodépression** : Les femmes immunodéprimées sont plus susceptibles à l'infection à HPV, que ce soit en raison d'un traitement immunosuppresseurs (en cas de transplantation ou de lupus) ou en raison de l'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). Dans ces cas, l'évolution du cancer invasif du col utérin est plus rapide (Denny *et al.*, 2012).

- **Cofacteurs viraux** : Il a été démontré que la coïnfection par plusieurs types d'HPV ou par d'autres virus sexuellement transmissibles tels que l'Herpès Simplex Virus 2 (Hildesheim *et al.*, 1991), l'Epstein-Barr virus (EBV) (Sasagawa *et al.*, 2000) ou encore *Chlamydiae trachomatis* (Koskela *et al.*, 2000), favorise le développement du cancer du col de l'utérus.

- **Facteurs nutritionnels** : Il semblerait qu'une alimentation riche en fruits, en légumes, en vitamines C et E, ou encore en - et -carotènes, ait un rôle protecteur contre la persistance de l'infection par HPV, tous comme certains régimes alimentaires riches en fibres et vitamines. D'autre part, les vitamines A, B9 et E semblent avoir un effet inhibiteur sur le cancer du col utérin (Garcia-Closas *et al.*, 2005).

- **Comportement sexuel** : La précocité du premier rapport, les antécédents de maladies sexuellement transmissibles, un grand nombre de partenaires sexuels, les rapports réguliers avec un partenaire ayant des antécédents d'infections sexuellement transmissibles, sont autant de facteurs de risque d'infection à HPV (Drolet *et al.*, 2013).

- **Cofacteurs liés à l'hôte** : L'état général, certains facteurs génétiques, la qualité de la réponse immunitaire, les hormones endogènes de la patiente infectée par HPV, ont un rôle à jouer dans la survenue des cancers du col. (KHENCHOUCHE A, 2014).

I.1.12 Potentiel oncogène

L'infection par l'HPV est un événement précoce de l'oncogénèse et, du point de vue moléculaire, ces tumeurs sont très différentes de celles liées au tabac et à l'alcool, qui présentent un fort taux de mutation de p53 contrairement aux cancers liés à l'HPV.

Ces virus contiennent 2 oncogènes, E6 et E7, qui inhibent respectivement p53, et Rb, 2 protéines antioncogènes. La protéine codée par E6 forme un complexe avec E6-AP (protéine associée à E6) qui possède une activité ubiquitine ligase. Ce complexe se lie à p53 et entraîne sa dégradation via le protéasome. La protéine codée par E7 entre en compétition avec le facteur de transcription E2F pour se lier à Rb. Ainsi, la famille Rb est inactivée, le facteur E2F libéré, la cellule entre en phase S et de l'ADN est synthétisé. Rb régule négativement p16, un inhibiteur des kinases dépendantes des cyclines.

Cette protéine p16 peut être détectée en immunohistochimie et est corrélée à l'infection par l'HPV. L'infection par l'HPV inactive donc les points de contrôle du cycle cellulaire et entraîne la transformation de la cellule. Les virus à faible risque et à haut risque de cancérisation diffèrent par la capacité d'E7 à simplement lier Rb ou à entraîner sa dégradation. Les protéines E6 et E7 des virus à haut risque ont également la faculté de perturber les points de contrôle de la mitose (*Weinberger PM et al., 2006*).

I.1.13 Conséquences

Après l'exposition aux HPV trois situations sont observées de patient à patient inégaux :

a. L'infection à HPV dite latente ou inactive (portage sain du virus) :

Le virus présent au niveau des muqueuses ou de la peau rester « dormant » des mois voire des années durant sans développer d'anomalie ou lésion visible et ne se multiplient pas.

Dans la grande majorité de ces cas, l'immunité, permet de se débarrasser spontanément des virus.

L'infection à HPV latente n'est donc pas contagieuse. La majorité des individus concernés par ces infections latentes n'ont pas connaissance de leur infection puisqu'elle n'entraîne aucune anomalie visible et aucun symptôme.

Lorsque le sujet, pour des raisons qui lui sont propres, n'a pas développé l'immunité nécessaire pour éliminer ces virus, il développe une infection « qui **persiste** ». La persistance du virus au niveau des muqueuses et en particulier du col, entraîne des anomalies des cellules en particulier d'une zone privilégiée et vulnérable appelée la zone de transformation. Les cellules infectées subissent alors des modifications morphologiques qui sont détectées à l'occasion des frottis. On parle alors d'infection active.

Les lésions peuvent être reconnues après examen du col au microscope (colposcopie).

Elles apparaissent sous forme de « taches » qui peuvent alors être prélevées (biopsies).

Ces « taches » qui sont toujours bénignes, encore appelées *dysplasies* ou *CIN* (Cervical Intraepithelial Neoplasia), sont de grade 1, 2 ou 3 selon la sévérité des modifications cellulaires. Ces lésions sont considérées, à des degrés divers, comme des anomalies à risque de cancer non détectées, elles peuvent faire le lit du cancer du col dans un laps de temps relativement long (*J. Monsonogo, 2013*).

b. Papillomavirus dits à haut risque:

Concerne toutes les lésions précancéreuses du col utérin (*J. Monsonogo, 2013*).

c. Papillomavirus dits à bas risque:

Cinq virus appartiennent à ce sous-groupe causant des verrues génitales, encore appelées **condylomes acuminés** ou encore « **crêtes de coq** ». Ces anomalies sont toujours bénignes et n'ont pas de risque de cancer, les sites les plus souvent concernés sont la vulve, le périnée, l'anus, plus rarement le col et le vagin (*J. Monsonogo, 2013*).

I.1.14 Tropisme du virus HPV

Les Papillomavirus sont hautement spécifiques de l'espèce hôte.

On n'observe pas d'infections croisées avec d'autres espèces. De plus, ils ont un tropisme tissulaire particulier pour la peau et les muqueuses malpighiennes.

Certains auteurs souhaitaient classer les HPV en fonction de ce tropisme en distinguant les HPV cutanés et les HPV muqueux. Mais l'existence de co-infection des deux types au niveau cutané a fait opter pour la classification internationale (*DOUVIER S et al., 2004*).

Dans le groupe des HPV, les types viraux sont associés à des localisations anatomiques spécifiques et à des lésions caractéristiques.

Le **tableau III** résume les différentes lésions correspondantes, sachant toutefois que ces localisations ne sont pas exclusives puisque dans des conditions particulières (immunodépression), des types habituellement génitaux peuvent se retrouver associés à des lésions cutanées.

Ce tropisme tissulaire, qui se caractérise aussi bien in vivo qu'in vitro en culture cellulaire, pourrait être d'ordre transcriptionnel, le génome n'étant capable de s'exprimer in vitro que dans certains types de cellules, comme les kératinocytes ou les cellules carcinomateuses du col utérin (*O'CONNOR et al., 1995*).

Tableau III : Classification des *Papillomavirus humains* et lésions associées (O'CONNOR *et al.*, 1995)

Types d'HPV	Localisation	Lésions associées
- 2 - 2	- Mains, pieds - Face, cou, tête	- Verrue en mosaïque - Papillomes filiformes, multidigités.
- 7 - 2, 4, 26, 29	- Cutanée: mains - Mains, membres	- Verrues du boucher - Verrues vulgaires, parfois endophytiques.
- 3, 10, 23, 27, 28, 29, 49	- Face, mains, membres.	- Verrues planes communes EV bénigne.
- 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19 à 25, 36, 46, 47, 50	- Cutanée : mains, membres tronc.	- Épidermodysplasie verruciforme (EV) (virus oncogènes).
- 37 - 38 - 48	- Cutanée - Cutanée - Cutanée	- Kératoacanthome. - Mélanome malin. - Verrues multiples, carcinomes cutanés
- 57, 60	- Cutanée	- Kyste épidermoïde plantaire ou palmaire.
- 6, 11, 30, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 62, 64, 67, 69-72, 74 - 13, 32	- Muqueuse anogénitale laryngée - Muqueuse orale	- Condylome acuminé, Buschke Loewenstein, papillome laryngé, CIN. - Hyperplasie épithéliale focale maladie de Heck.
- 16, 18, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 43-45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, 79-82, 84-87	- Muqueuse anogénitale - Muqueuse orale	- Condylomes, ¹ CIN, ² VaIN, ³ VuIN, ⁴ PIN carcinome du col, Maladie de Bowen, papulomatose Bowenoïde (HPV : 16, 18).
- 30, 57 - 73, 83...	- Muqueuses génitales	- Cancer laryngé - ?
- 1, 41, 63	- Cutanée	- Myrmécies, verrues multiples, kyste épidermique plantaire ou palmaire.

¹CIN : néoplasie intracervicale, ²VaIN : néoplasie intravaginale ; ³VuIN : néoplasie intravulvaire, ⁴PIN : néoplasie intrapéniennne.

Les HPV ont un tropisme positif pour les kératinocytes et une spécificité pour certains sites anatomiques

-HPV-1 est associé aux verrues planaires et ne s'observe que dans les épithéliums très kératinisés de la paume ou de la plante des pieds,

-HPV-16 est associé avec l'épithélium squameux du col utérin et n'infecte jamais la plante des pieds.

La Coordination des HPV se traduit sur la relation génotypique, le **tableau IV** représente cette relation :

Tableau IV: Relation entre le type et le tropisme viral (*De Villiers E.M et al., 2004*)

Tropisme du virus HPV	Génotype viral
Cutané	1,2,4,5,8,12,14,17,19,20,21,22,23,25,27,36,38,41,47,48,49,50,57,60,63,75,76,80,88,92,93,95,96
Muqueux	6,11,13,16,18,26,30,31,32,33,34,35,39,42,44,45,51,52,53,54,56,58,59,61,62,66,67,70,71,72,73,74,81,82,83
Mixte	3, 7, 10, 28, 29, 40, 78, 91, 94

I.1.15 Réponse immunitaire contre l'infection par HPV

L'échappement viral à la réponse immune favorise la persistance virale.

L'étude des modèles animaux et l'analyse des réponses immunes dans la genèse des cancers du col ont montré le rôle majeur de l'immunité cellulaire dans la régression de l'infection et la prévention des réinfections avec un même type viral.

La réponse humorale par la présence d'anticorps neutralisants, prévient l'infection de nouveaux sites et les réinfections.

La réponse immune est essentiellement spécifique de type, reflétant la nature spécifique de type des épitopes B et T. L'existence d'une protection croisée, observée cliniquement lors des essais vaccinaux, pourrait correspondre à la présence d'épitopes communs à des types d'HPV phylogénétiquement proches (HPV 16 et HPV 31).

D'une façon générale, la réponse immune contre les HPV au niveau des épithéliums est peu efficace. Les kératinocytes sont de mauvaises cellules présentatrices d'antigènes et les cellules dendritiques sont peu nombreuses. Le déroulement intraépithélial du cycle viral, peu lytique avec une faible production des protéines virales et un relargage des virions uniquement en surface de l'épithélium, ainsi que l'absence de virémie, exposent peu le virus au système immunitaire, en particulier aux cellules de Langerhans et aux

cellules dendritiques. La production de cytokines pro-inflammatoires est donc peu ou pas stimulée, ce qui favorise un état de tolérance immunitaire.

Enfin, les protéines E6 et E7, notamment pour HPV 16, diminuent l'expression des récepteurs de surface de type TLR 9 (Toll Like Receptor 9), reconnaissant les ADN viraux ou bactériens. S'y associent l'inhibition du système interféron par les protéines E6 et E7 (**Figure 12**), la diminution par la protéine E5 de la présentation des antigènes par les molécules HLA de classe II, qui favorisent l'échappement immunologique (*Howley et al., 2007*).

La réponse immune est donc modérée et retardée, ce qui favorise l'installation et la persistance de l'infection.

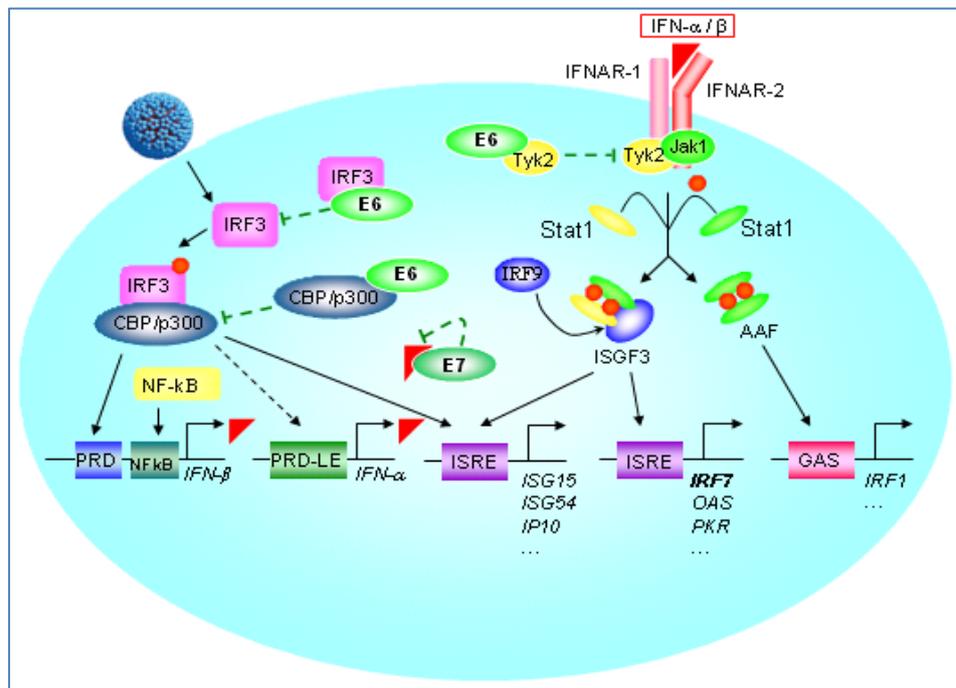


Figure 12: Mode d'inhibition des défenses antivirales cellulaires par les protéines virales E6 et E7 (*Georgopoulos et al., 2000*)

La présence du virus HPV dans une cellule épithéliale basale active le système immunitaire de défense antivirale. L'activation d'IRF3 par phosphorylation est empêchée par sa liaison à E6, ce qui inhibe sa liaison à CBP/p300. Ceci est renforcé par l'interaction E6-CBP/p300 qui empêche également la transactivation de l'interféron (IFN) β dépendante de NF-κB. La liaison d'E7 à l'IFN-α empêche l'initiation des voies de signalisation médiée par ce dernier.

De même l'interaction E6-Tyk2 bloque de manière précoce la voie de réponse aux IFN de type I (*Georgopoulos et al., 2000*).

Plusieurs observations illustrent l'importance des réponses cellulaires : ainsi l'élimination d'une verrue conduit à l'élimination des autres verrues, probablement par stimulation de l'immunité par les virions relargués. Les traitements stimulant la réponse immunitaire T locale tels que l'imiquimod ont montré une efficacité dans le traitement des lésions cutanées et muqueuses (*Winters et al., 2008*).

L'altération des défenses immunitaires cellulaires, physiologique (grossesse, ménopause) ou acquise (infection par le VIH, transplantation) augmente la persistance et la fréquence, non seulement des infections HPV à haut risque oncogène, mais aussi des infections bénignes, condylomes ou lésions cutanées (*Palefsky et al., 2009*).

Dans les modèles animaux comme chez l'Homme, les réponses cytotoxiques sont faibles ou indétectables dans les lésions cancéreuses. Au contraire, la régression des lésions est associée à une réponse cytotoxique et T helper intense, dirigée contre les protéines E1, E2, E6, E7 et L2 (*Howley et al., 2007*).

La dérégulation de la réponse cellulaire spécifique par les HPV associe l'inhibition des réponses Th1 et Th2, l'inhibition par E7 de l'expression du transporteur TAP1 qui permet le chargement des peptides antigéniques sur les molécules HLA de classe I avant leur transfert vers la surface cellulaire, diminuant la présentation des antigènes et la réponse cytotoxique, l'induction de cellules T CD4 régulatrices (T_{reg}), favorisant la tolérance de l'infection et sa persistance (*Einstein et al., 2018*).

La réponse humorale naturelle, dirigée contre plusieurs protéines virales (E6, E7, E2, L1 L2), est peu intense, avec des taux d'anticorps circulant beaucoup plus faibles que ceux obtenus par la vaccination, y compris vis-à-vis de L1 protéine constitutive majeure du virion, et donc exposée au système immunitaire. Lors de l'immunisation naturelle ou après administration de vaccins prophylactiques, les anticorps neutralisants, essentiellement dirigés contre L1, bloquent les sites de fixation du virus. Ils peuvent, dans le cas d'une

porte d'entrée muqueuse, agir soit par transsudation soit par exsudation, au niveau de microlésions de l'épithélium (**Figure 13**).

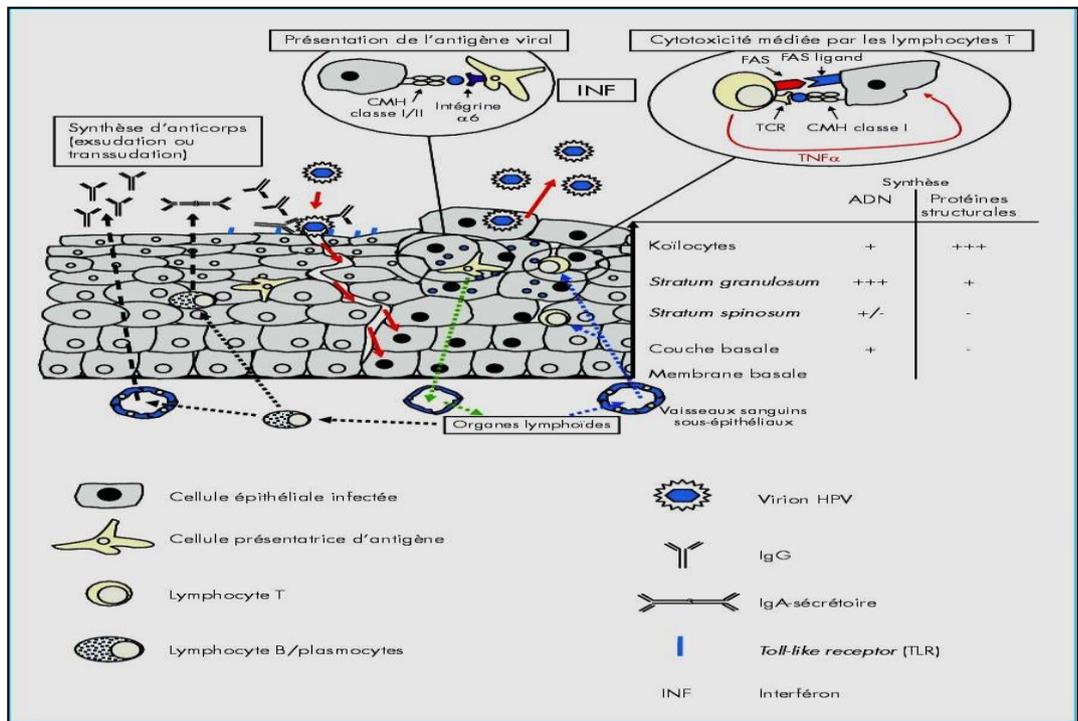


Figure 13: Physiopathologie de l'infection et réponse immunitaire naturelle au cours de l'infection par un HPV (Sophie et al., 2010)

I.2 Cancer du col de l'utérus

I.2.1 Définition le mot cancer

Le cancer est un terme générique pour définir des néoplasmes malins qui apparaissent, en partie, lors du dérèglement du cycle cellulaire et de la suppression de la mort cellulaire programmée, l'apoptose (Robinson, 2005).

I.2.2 Définition du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus s'appelle en terminologie médicale « épithélioma », provient de l'épithélium, et -oma » pour signaler une forme de cancer. Ce cancer viro-induit débute dans la zone de transition lorsque des cellules de la muqueuse cervicale dégénèrent en cellules malignes. Il se développe, sans signe d'alerte et en général il touche les femmes jeunes entre 30 et 50 ans.

I.2.3 Anatomie

Le col utérin est la portion fibromusculaire basse de l'utérus. Il est de forme cylindrique ou conique, et mesure de 3 à 4 cm de long pour 2.5 cm de diamètre. La portion du col s'étendant à l'extérieur de l'orifice externe est

appelé "exocol". C'est la partie aisément visible du col lors d'un examen visuel avec le spéculum. La portion du col située à l'intérieur de l'orifice externe est appelée "endocol". Pour la visualiser, il est nécessaire d'étirer ou de dilater l'orifice externe (*Sellors et al., 2004*) (**Figure 14**).

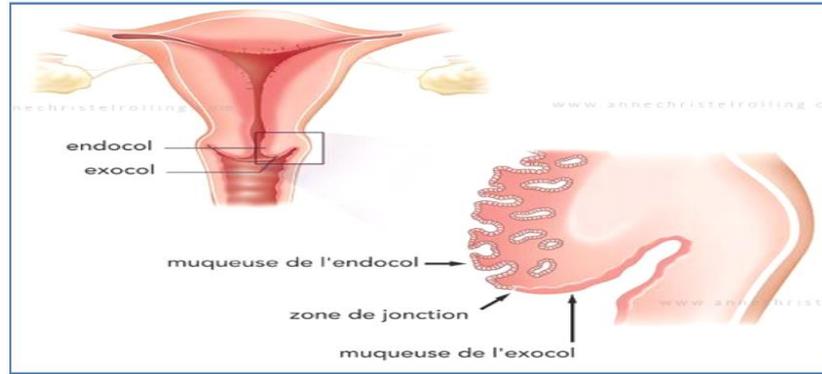


Figure.14 : schéma descriptif de l'utérus (Rolling, 2014)

I.2.4 Histologie

Deux types d'épithélium tapissent la surface du col de l'utérus : épithélium pavimenteux (également appelé épithélium malpighien) tapissant l'exocol, constitué de plusieurs couches de cellules et épithélium cylindrique (également appelé épithélium glandulaire) constituant la portion endocervicale réparti en une unique couche cellulaire. Il est beaucoup plus mince que l'épithélium pavimenteux (**Figure 15**) (*Sellors et al., 2004*).

La différence d'épaisseur entre les deux épithéliums donne une ligne étroite, marquée par une dénivellation dite la zone de jonction pavimento-cylindrique(JPC). La localisation de la JPC originelle varie avec l'âge de la femme, son statut hormonal, l'utilisations ou non d'une contraception orale (*OMS, 2007*).

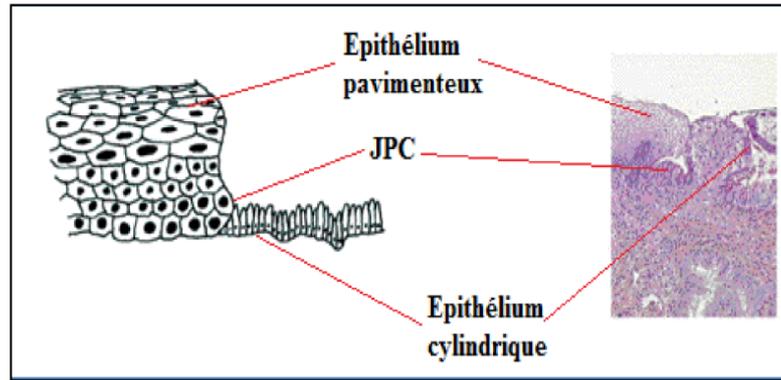


Figure 15 : Épithélium pavimentero-cylindrique (*Sellors et al., 2004*)

I.2.5 Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus se déroule selon un continuum de lésions histologiques précancéreuses. Celles-ci font suite à la persistance de l'infection par un HPV oncogène à haut risque. Un cancer du col met en moyenne quinze à vingt ans à se développer après la persistance d'une infection HPV à haut risque (*Hantz et al, 2006*).

I.2.6 Infection par des HPV haut risque

Les HPV à haut risque sont responsables de plus de 99% des cancers du col. Le site le plus souvent concerné est la zone de transformation du col. Plusieurs types viraux ont un tropisme génital. Les types 16 et 18 sont ceux que l'on retrouve le plus souvent dans les lésions immédiatement précancéreuses et les cancers. La transmission de ce virus s'effectue par contact sexuel. Les femmes âgées de 20 à 70 ans constituent la cible concernée par ces lésions (*Monsonogo, 2006*).

I.2.6.1 Progression des lésions cervicales précancéreuses

Les lésions intra-épithéliales du col sont souvent causées par les types de HPV oncogènes et sont des précurseurs du cancer du col, toutefois la majorité des lésions intraépithéliales ont une évolution clinique favorable, avec régression spontanée. Ces lésions sont considérées comme les changements morphologiques les plus précoces associés au cancer (*Edith et al., 2003*).

On peut caractériser les lésions d'après une classification histologique ou cytologique :

La classification histologique : CIN=Les néoplasies cervicales intraépithéliales en trois grades (CIN1, CN2, CIN3) (Richart, 1990) en fonction de la hauteur des atteintes. Certaines sont des stades facultatifs et d'autre des étapes nécessaires l'apparition d'un cancer invasif (Rouquille, 2009).

La classification cytologique basée sur le système de Bethesda 2001, qui divise plutôt les lésions pré invasives en deux groupes :

- les lésions de bas-grade ou (L-SIL) : (Low Squamous Intraepithelial Lesion) lésions malpighiennes intra épithélial de bas grade correspondant à CIN1
- les lésions de haut-grade (H-SIL) : (High-Squamous Intraepithelial Lesion) lésions malpighiennes de haut grade regroupant CIN2 et CIN3 (**Figure 16**).

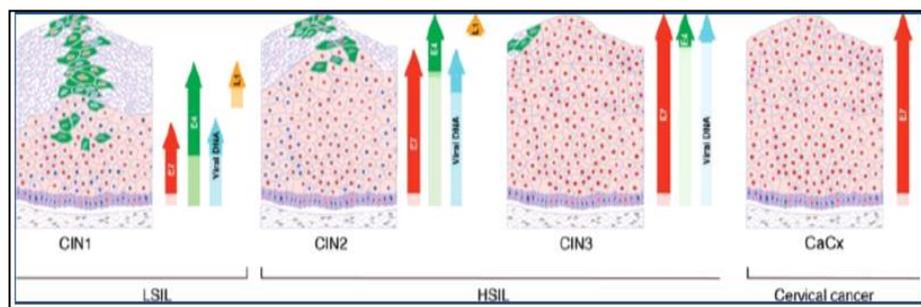


Figure 16 : Histoire naturelle de l'infection à HPV oncogène liée au cancer du col de l'utérus (Doorbar, 2006)

1.2.6.2 Progression vers un cancer invasif

On parle de cancer invasif quand des cellules anormales envahissent l'épaisseur du tissu conjonctif fibreux, sous-jacent à la membrane basale. Quatre voies, généralement séquentielles, participent au processus de progression du cancer invasif :

Propagation à l'intérieur du col.

Propagation aux structures voisines.

- (i) Propagation par voie lymphatique.
- (ii) Métastases à distance (OMS, 2007).

I.2.7 Lésions cervicales précancéreuses

Le cancer du col utérin correspond à un carcinome épidermoïde (malpighien) dans 90 % des cas et un adénocarcinome dans 10 % des cas. C'est un cancer d'évolution lente qui est précédé par des lésions intra-épithéliales appelées néoplasies intra épithéliales cervicales (cervical intra epithelial neoplasia, CIN) (OMS, 2014).

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus comporte plusieurs lésions histologiques précancéreuses (les néoplasies cervicales intra-épithéliales ou CIN), faisant suite à la persistance de l'infection génitale par un HPV à haut risque oncogène, dont certaines sont des stades facultatifs (CIN 1 et CIN 2) et d'autres des étapes nécessaires (CIN 3) à l'apparition d'un cancer invasif (Monsonogo, 2006).

Les CIN (néoplasies cervicales intra épithéliales) sont la traduction histologique des lésions cytologiques cervicales. La dysplasie ou CIN correspond à une transformation néoplasique de l'épithélium cervical, qui, par définition, reste cantonnée à celui-ci en respectant la membrane basale qui le sépare du chorion. Elle se traduit du point de vue morphologique par des anomalies architecturales et cytologiques (**Figure 17**):

- **Du point de vue architectural** : l'épithélium est caractérisé par une perte de la différenciation. Il est constitué de cellules jeunes, sans glycogène, avec des images de mitoses, parfois atypiques ;
- **Du point de vue cytologique** : les cellules ont des anomalies nucléaires et cytoplasmiques, visibles en histologie et décelées sur le frottis qui permet ainsi le dépistage.

Ces lésions se développent, à partir de la jonction squamo-cylindrique, suite à la persistance de l'infection a HPV dite à haut risque oncogène.

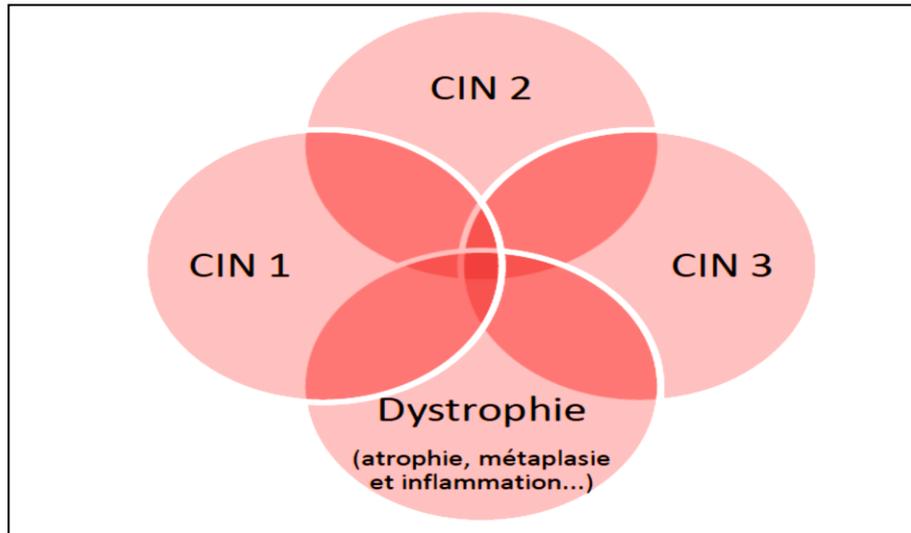


Figure 17 : Chevauchements diagnostiques dans les CIN (*Clifford et al., 2003*)

Le CIN est divisé en trois grades CIN 1, 2 et 3. Le grade 1, 2 ou 3 est donné en fonction de la hauteur de la désorganisation de l'épithélium et de la présence d'atypies nucléaires et de Figures de mitose anormales. La majorité des CIN 2 et 3 contiennent exclusivement des HPV à haut risque alors que les CIN 1 contiennent une hétérogénéité d'HPV avec des types à haut et à bas risque (*Clifford et al., 2003*).

Ils sont caractérisés par un taux de régression important, surtout chez les femmes jeunes. Ceci explique pourquoi les termes de CIN de bas grade correspondant aux CIN 1 et de haut grade incluant le CIN 2 et le CIN 3 ont été proposés pour dénommer les lésions histologiques du col utérin (*Clifford et al., 2005*).

I.2.8 Les facteurs carcinogènes

Le principal facteur de risque d'un cancer mortel du col utérin est le manque d'exams gynécologique et de frottis fréquents (*ESMO, 2012*).

Par ailleurs, des facteurs sont importants dans le développement du cancer du col de l'utérus.

- **Facteurs viraux :** persistance de l'infection à HPV HR...

- **Facteurs exogènes :** (environnementaux) tabagisme, nutrition ...

- **Facteurs endogènes** : (propre à l'individu) les rapports sexuels non protégés

I.2.9 Mécanisme de la carcinogénèse

Les papillomavirus sont des virus lytiques. La transformation cellulaire résulte d'une prolifération cellulaire exagérée, stimulée par les protéines E6 et E7, en réponse à l'infection abortive associée à la persistance virale. De tels cycles abortifs sont observés en particulier au niveau des zones de jonction entre épithélium malpighien et épithélium glandulaire.

L'évolution d'une infection par un HPV oncogène vers un cancer nécessite la coopération de plusieurs protéines virales interférant avec le cycle cellulaire normal. Deux oncoprotéines, E6 et E7, dont les propriétés transformantes ont été démontrées *in vitro* et *in vivo*, sont essentiellement impliquées. E5 possède également des propriétés transformantes, mais son mécanisme d'action est moins connu. Selon le type viral, cutané ou muqueux, les mécanismes moléculaires impliqués sont différents (*Doorbar, 2005*).

I.2.9.1 HPV génitaux muqueux

L'infection par un HPV est une condition nécessaire au développement d'un cancer du col utérin, comme en témoigne la présence du génome viral, retrouvée dans 99,9 % des cancers du col et dans plus de 80 % des lésions de haut grade. L'évolution d'une lésion de bas grade vers une lésion de haut grade puis un cancer nécessite la persistance de l'infection virale et nécessite en général sur plusieurs années.

Au niveau cellulaire, l'évolution d'une dysplasie de bas grade vers une lésion de haut grade est associée à phase initiale de prolifération cellulaire, avec production persistante des oncoprotéines E6 et E7 et diminution de la réplication virale et de l'expression des autres protéines virales. Puis surviennent des anomalies de ségrégation des chromosomes, avec duplication des centrosomes, et divers phénomènes épigénétiques entraînant une instabilité génétique et une aneuploïdie, sous l'influence des protéines E6 et E7, dérégulant l'expression des protéines oncogènes virales.

Cet événement est associé à une augmentation de la dysplasie, et précède l'intégration. L'intégration du génome viral dans le génome cellulaire constitue un événement majeur, qui intervient dans les premières phases d'évolution vers un cancer. C'est un événement terminal qui interrompt la réplication virale. Au cours de l'intégration, le génome viral est clivé au sein de séquences codant E1 ou E2, préservant les séquences codant E6 et E7. Cela affranchit la synthèse de E6 et E7 du contrôle exercé par E2 au cours du cycle viral normal et contribue à augmenter la dérégulation du cycle cellulaire. L'intégration du génome viral est : Cycle viral normal et évolution vers une prolifération maligne au cours d'une infection par un HPV muqueux génital (*Yugawa et al., 2009*).

Le cancer du col ne survient qu'en présence d'une infection persistante par un papillomavirus. Parmi les femmes infectées par un HPV à haut risque, l'infection régresse spontanément dans 90 % des cas. Une infection persistante se développe dans 3 à 10 % des cas qui évoluent vers une lésion de haut grade sous l'influence du type viral (oncogène), mais aussi de l'âge, du terrain immunologique. Une infection sexuellement transmise associée, l'imprégnation œstrogénique ou un déficit immunitaire sont des facteurs favorisant la persistance de l'infection. Le tabac joue à la fois un rôle immunosuppresseur et cocarcinogène.

L'évolution se fait en général lentement, en 7 à 30 ans. Dans certains cas, l'infection peut évoluer très rapidement en deux à trois ans vers une lésion précancéreuse (CIN II ou III), puis poursuivre son évolution vers un cancer. A) Évolution des lésions au niveau de l'épithélium ; B) modifications du cycle viral au cours de la progression vers un cancer : à gauche le cycle viral est productif, les lésions sont bénignes et spontanément régressives ; à droite , au cours de la persistance virale le cycle viral est abortif, avec maintien du virus dans les cellules basales et risque d'intégration.

Certaines lésions peuvent évoluer en deux à trois ans vers une lésion de haut grade précurseur de cancer. CIN I ou LSIL (Low Grade Squamous Intra Epithelial Lesion ; lésion de bas grade) : à ce stade on observe une prolifération virale, avec koilocytose, dysplasie modérée, et une extension des lésions ne

dépassant pas le tiers de l'épithélium, l'ADN viral est sous forme épisomale, les protéines E6 et E7 favorisent la prolifération. CIN II-III ou HSIL (High grade Squamous Intra Epithelial Lesion ; lésion de haut grade): dysplasie sévère à modérée, avec extension à la totalité de l'épithélium, et instabilité génomique sous l'influence de E6 et E7.

L'ADN viral est présent sous forme intégrée. La réplication virale est réduite. La régression des lésions est moins fréquente. Le nombre de copies de génome HPV est corrélé avec le potentiel évolutif des lésions. Cancer : les cellules transformées, du fait de la prolifération et de l'instabilité génétique constamment entretenue par la synthèse dérégulée des protéines E6 et E7, ont acquis les propriétés nécessaires au développement de la tumeur, telles que la perte d'inhibition de contact et la capacité d'envahissement de la basale permettant le passage dans le tissu conjonctif puis l'atteinte ganglionnaire et la dissémination de métastases (Sophie et al., 2010).

Les HPV muqueux oncogènes se caractérisent essentiellement par les propriétés particulières de leurs onco-protéines E6 et E7 qui coopèrent pour assurer le maintien de la réplication virale dans les cellules différenciées (Figure 18).

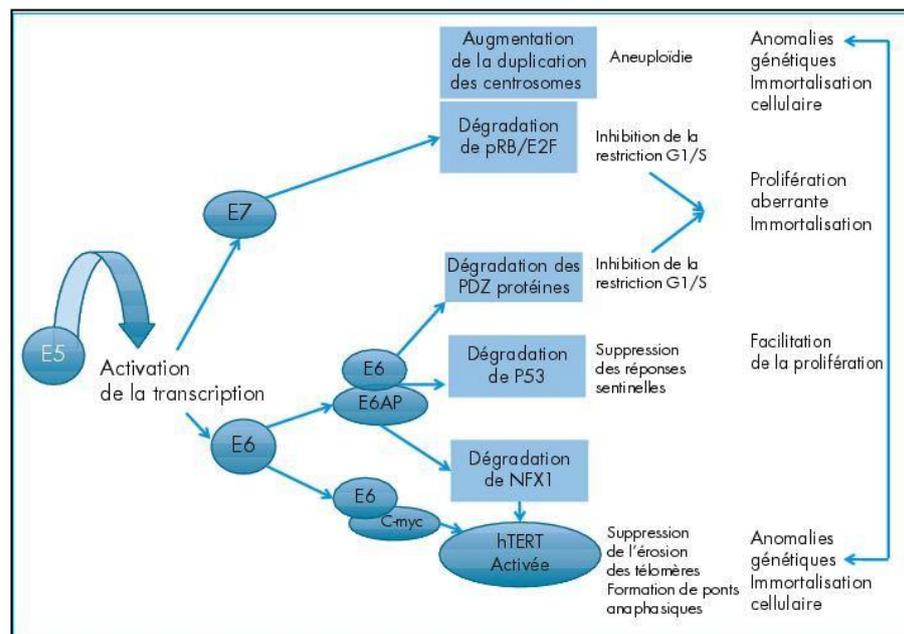


Figure 18 : Coopération des protéines E6, E7 et E5 des HPV muqueux génitaux dans la persistance virale et l'oncogénèse virale

E6 favorise la dégradation de la protéine p53 (**Figure 19**), qui active notamment l'apoptose en cas de lésions de l'ADN cellulaire, mais aussi celle d'autres protéines régulant le cycle cellulaire. E6 se lie à p53 en favorisant son ubiquitination et sa destruction empêchant ainsi p53 de bloquer le cycle cellulaire en phase G1 et d'induire l'apoptose cellulaire en réponse à l'infection.

Un second mécanisme, impliquant la télomérase, inhibe la sénescence cellulaire liée à l'érosion des chromosomes. E6 active l'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase humaine (hTERT) qui porte la fonction transcriptase inverse de cette protéine en dégradant son inhibiteur NFX1 (*Yugawa et al., 2009*).

Cette sous-unité hTERT est naturellement activée dans les cellules souches, et dans certains cancers. Les protéines E6 des HPV à haut risque oncogène possèdent également un motif capable de se lier au domaine « PDZ » de nombreuses protéines régulatrices du cycle cellulaire (*Yugawa et al., 2009*).

La protéine E7 interagit avec la protéine suppresseur de tumeur pRb en favorisant sa liaison à la calpaine, qui dégrade partiellement pRb et provoque sa dégradation par le proteasome. Ceci empêche sa liaison avec le facteur de transcription E2F dont l'activité est régulée par pRb.

Le relargage d'E2F favorise la transcription de nombreux gènes cellulaires impliqués dans la réplication de l'ADN et la progression de la cellule vers la phase S. E7 interagit également avec p16, p21, p107 et p130 (*Yugawa et al., 2009*), qui inhibent la réplication cellulaire.

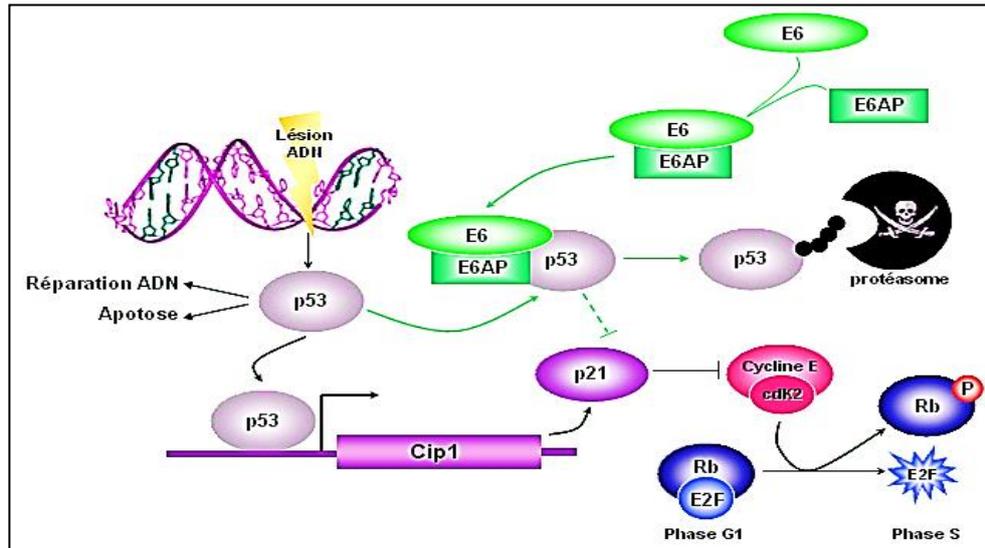


Figure 19: Influence de l'oncoprotéine virale E6 sur la protéine p53 et voie de réponse aux lésions de l'ADN

E7 interagit également avec p600, facteur associé à pRb qui régule la dépendance d'ancrage cellulaire et l'expression des intégrines (**Figure 20**). Elle favorise également l'aneuploïdie, en dérégulant le contrôle des centrosomes, essentiel pour la ségrégation des chromosomes au cours de la mitose. E6 serait également capable d'induire une polyploïdie indépendamment de p53.

Les protéines E5, E6 et E7 coopèrent non seulement pour favoriser l'échappement du virus à la réponse immune mais aussi pour transformer les cellules basales et suprabasales. L'activation de la prolifération cellulaire par inactivation des répresseurs de l'entrée en phase S, la dérégulation de la ségrégation des chromosomes et l'augmentation de l'activité télomérase contribuent à augmenter la fréquence des mutations dans les cellules en phase de croissance. L'inhibition des facteurs cellulaires suppresseur de tumeur p53 et pRB empêche la destruction des cellules transformées (*Sophie, et al., 2010*).

L'interaction E6 / E6AP permet à E6 d'ubiquitiner la protéine p53 (● : Ubiquitine), et conduit à la dégradation de p53 par le protéasome (réponse physiologique aux lésions de l'ADN, médiée par p53 est donc inhibée : la transcription de Cip1 n'est pas activée, la cyclineE/cdk2 est donc active et phosphoryle pRb d'où la libération du facteur de transcription E2F/DP. Le check point G1/S est donc franchi) (*Ewen et al., 1993*).

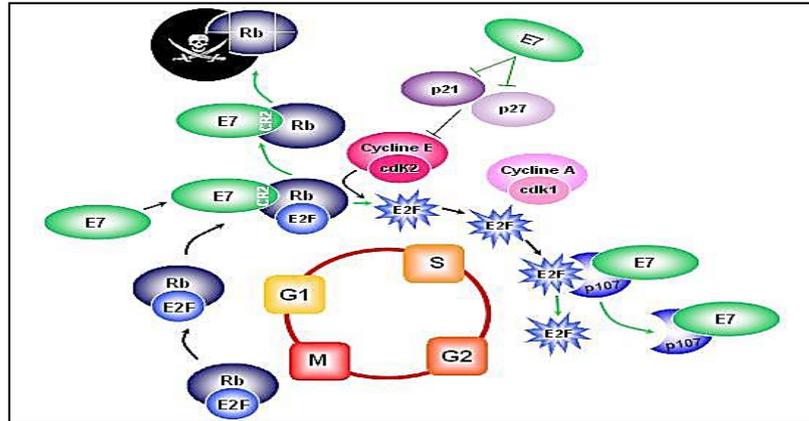


Figure 20 : Influence de l'oncoprotéine E7 sur les protéines pRb et p107 (MÛNGER *et al.*, 2004)

Le gène E7 se combine avec la protéine Rb en déplaçant la liaison Cycline E-cdk2. Il active ainsi le facteur E2F. Alors que dans la phase S, le couple cdk1-cycline A doit se combiner avec la protéine p107 pour inhiber l'activité du facteur de transcription E2F, le gène E7 se lie préférentiellement et va permettre au facteur E2F de rester plus longtemps actif (MÛNGER, *et al.*, 2004).

Les protéines E6 des HPV à bas risque oncogène diffèrent des protéines des HPV à haut risque, notamment par l'absence de liaison à p53 et l'absence de motif de liaison au domaine PDZ (Lazarczyk *et al.*, 2009).

De même, le moindre pouvoir transformant des protéines E7 des HPV à bas risque oncogène est associé à une substitution d'un acide aminé dans le site de liaison à pRb. Enfin, les protéines E7 des HPV à bas risque n'entraînent pas de surduplication des centrosomes.

Essentiellement étudiée chez HPV 16, E5 joue un rôle certain dans la prolifération et la persistance virale. Elle intervient précocément dans l'évolution des lésions et se trouve fréquemment délétée en cas d'intégration. Elle augmente les récepteurs EGF à la surface de la cellule, facilite le trafic des vésicules intracellulaires, stimule plusieurs facteurs de transcription et augmente la synthèse d'E6 et E7. Son rôle promoteur de la réplication virale, (Figure 21) en facilitant l'activité des facteurs de transcription AP1 dépendants du Zn^{2+} par liaison aux protéines EVER dans la cellule (Sophie *al.*, 2010).

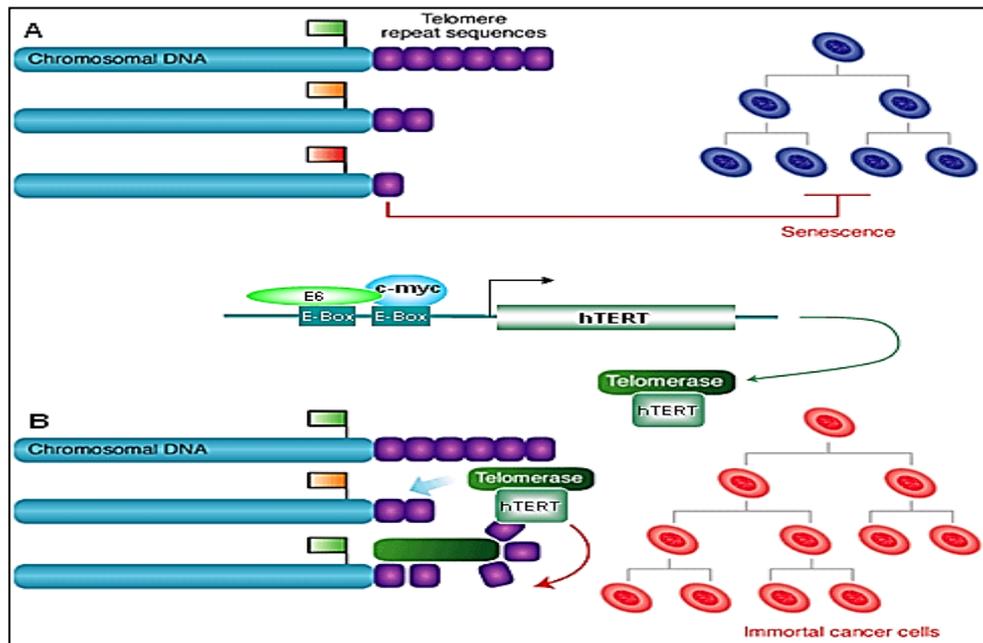


Figure 21: Réactivation transcriptionnelle de la sous-unité hTERT de la télomérase par l’oncoprotéine virale E6 (VELDMAN *et al.* 2001)

A. En absence d’E6, les répétitions télomériques subissent une érosion progressive qui aboutit à la sénescence répliquative des cellules somatiques.

B. En présence de l’oncoprotéine virale E6, celle-ci s’associerait au facteur cellulaire c-Myc au niveau des E-Box du promoteur minimal de hTERT. L’activation transcriptionnelle de hTERT aboutit à la liaison de la sous-unité catalytique au complexe enzymatique télomérase qui allonge alors les télomères des cellules épithéliales (VELDMAN *et al.*, 2001).

I.2.9.2 HPV Cutanés

En particulier, l’ADN viral ne s’intègre pas et la séquence codant E5 est absente du génome des HPV β et γ . Les protéines E6 et E7 sont toujours impliquées dans la transformation cellulaire, sans interagir avec p53 ou pRb, mais en utilisant les voies stimulées par les Ultra-violettes (UV). Ainsi E6 favorise la dégradation de la protéine pro-apoptotique stimulée par les UV (protéine Bak). Les protéines E6 des HPV 5 et 8 interviennent dans l’inhibition de la régulation du cycle cellulaire par différentes cyclines, alors que cette voie n’est pas utilisée par les HPV muqueux (Sophie *al.*, 2010).

I.2.10 Détection qualitatif du génome viral de l’HPV

L’objectif de cette étude c’est d’évaluer le taux de présence du virus HPV dans cancers (HPV+ ou HPV-),

I.2.10.1 Techniques de dépistage dites tests HPV

Ces techniques permettent de détecter la présence d’un ou de plusieurs HPV sans identifier le ou les génotype(s) précis contenu(s) dans l’échantillon. Ainsi, ces tests ne permettent pas de détecter les infections multiples. (*Sébastien et al., 2010*).

Quant à la cible recherchée, il peut s’agir du génome entier, de la région L1 ou de régions E (Early pour précoce) comme E1 ou E6 et E7. Le spectre des HPV concernés correspond aux HPV HR, (*C. MOUGIN et al.*) (**Tableau V**).

Tableau V - Caractéristiques de différents tests HPV (*C. MOUGIN et al.*)

Biomarqueur	Nom du test	Fabriquant	Technologie	Cible moléculaire	HPV détectés	Génotypage
ADN viral	HC2	QIAGEN	Hybridation liquide	Génome entier	13 HPV HR (1)	non
	careHPV	QIAGEN	Hybridation liquide	Génome entier	13 HPV HR et HPV66	non
	ProbeSet	QIAGEN	Hybridation liquide	Génome entier	HPV16, 18, 45	partiel
	Cervista	HOLOGIC	Hybridation liquide	L1	13 HPV HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)
	GP5+/6+ EIA	non commercialisé	PCR	L1	13 HPV HR et HPV66	non
	INNOLiPA	Innogenetics	PCR	L1	13 HPV HR et 15 HPV BR	oui
	Linear Array	Roche	PCR	L1	13 HPV HR et 24 HPV BR	oui
	CLART	Genomica	PCR	L1	13 HPV HR et 22 HPV BR	oui
	PapilloCheck	Greiner	PCR	E1	13 HPV HR et 11 HPV BR	oui
	COBAS 4800	Roche	PCR TR	L1	13 HPV HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)
RT HPV	Abbott	PCR TR	L1	13 HPV HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)	
ARN viral	PreTect Proofer	Norchip	NASBA	ARNm E6/E7	HPV16, 18, 31, 33 et 45	oui
	APTIMA	GenProbe	TMA	ARNm E6/E7	13 HPV HR et HPV66	non
	EasyQ HPV OncoTect	Invirion/InCellDx	Hybridation <i>in situ</i>	ARNm E6/E7	13 HPV HR	
Protéine cellulaire	CINtec plus	mtm Laboratories	Immunomarquage	p16 ^{INK4a} /Ki-67		

I.2.10.2 Hybridation en phase liquide ou Hybrid Capture® 2

Le Test Hybrid Capture II permet la détection de 13 types de HPV-HR retrouvés dans la quasi-totalité des cancers et de 5 types de HPV-BR.

Le principe est le suivant :

- L'ADN de l'HPV est dénaturé et hybridé avec une sonde ARN spécifique de 5 HPV- BR et une sonde spécifique de 13 HPV-HR.
- L'hybride ADN-ARN est capturé par un anticorps anti-hybride fixé au fond d'un micro-puits.
- La présence de l'hybride est révélée par un anticorps anti-hybride secondaire couplé à une molécule de phosphatase alcaline. En présence d'ADN d'HPV, le substrat de la phosphatase alcaline est clivé en molécule lumineuse qui pourra alors être détectée (BLANC *et al.*, 2005) (**Figure 22**).

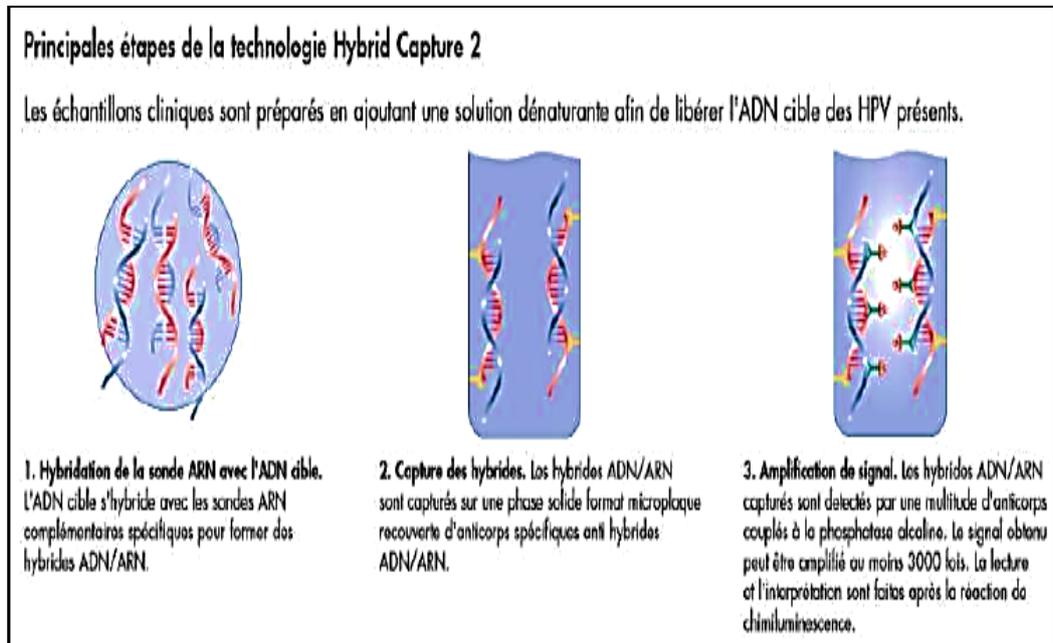


Figure 22 : Principales étapes de la technique Hybrid Capture 2 (Sellors *et al.*, 2000)

Cette technique possède une sensibilité plus faible que la PCR (5000 copies/mL vs 300 copies/mL). Elle est rapide, reproductible, applicable pour des séries importantes et présente une très bonne significativité clinique (ANAES 2002).

I.2.10.3 PCR en temps réel ou RT PCR technique de diagnostic récente pour la détection des protéines virales des HPV

Les techniques de PCR consensus peuvent être suivies d’une étape d’identification des types amplifiés par hybridation à l’aide de sondes spécifiques de types d’HPV qui sont généralement immobilisées sur un support solide à type de bandelettes, de puces ou de billes. Les hybrides sont ensuite révélés par des réactions enzymatiques nécessitant un substrat chromogène ou à l’aide de fluorophores (**Tableau VI**). Le génotypage peut aussi se faire par séquençage. Toutefois en cas d’infections multiples (et c’est souvent le cas), cette dernière technique n’est pas très discriminante car le génotype majoritaire serait préférentiellement séquencé.

Tableau VI - Types de détection et génotypes détectés avec des trouses commerciales de génotypage des HPV (*C. MOUGIN et al.*)

Nom de la trousse	Type de détection	Génotypes détectés
INNO-LiPA HPV genotyping CE (Innogenetics)	PCR consensus Amorces SPF10 (L1) Fragment 60 pb Hybridation sur bandelette Révélation chromogénique	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 26, 53, 66 6, 11, 40, 43, 44, 54, 70 69, 71, 74
Linear Array HPV genotyping test (Roche Diagnostics)	PCR consensus Amorces PGM1 (L1) Fragment 170 pb Hybridation sur bandelette Révélation chromogénique	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 8 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 2, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 81, 6 83, 84, IS39, CP6108.
Papillocheck HPV screening (Greiner Bio-One)	PCR consensus Amorces E1 Fragment 350 pb Hybridation sur puce Révélation fluorescente	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82. 6, 11, 40, 42, 43, 44
CLART HPV2 (Genomica)	PCR consensus Amorces E1 Fragment 450 pb Hybridation sur puce Révélation chromogénique	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82, 85 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62 71, 72, 81, 83, 84, 89
HPV genotyping LQ test (Qiagen)	PCR consensus Amorces GP5+/6+ (L1) Fragment 150 pb Hybridation sur billes Révélation fluorescente	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82

La PCR en temps réel est basée sur le même principe que la PCR classique mais la détection est automatisée et se fait en temps réel : la fluorescence émise permet de quantifier la cible présente. Chaque sonde oligonucléotidique est

marquée d'un fluorophore ou émetteur appelé reporter) et par un suppresseur (appelé quencher).

Le suppresseur a pour rôle de neutraliser l'émission fluorescente lorsqu'il se trouve proche de l'émetteur, c'est-à-dire lorsque la sonde est intacte.

Les sondes étant complémentaires de l'amplicon, elles vont se fixer à celui-ci au fur et à mesure de l'avancement de l'amplification. L'ADN polymérase a non seulement une activité d'élongation, mais aussi une activité nucléasique en 5' 3' qui clive les sondes.

D'émetteur et le suppresseur vont ainsi être séparés, le suppresseur ne pourra plus neutraliser la fluorescence de l'émetteur. Le fluorophore pourra donc émettre une fluorescence d'une longueur d'onde caractéristique lorsqu'il est excité par un spectre de lumière approprié (**Figure 23**) (Lancet 2014).

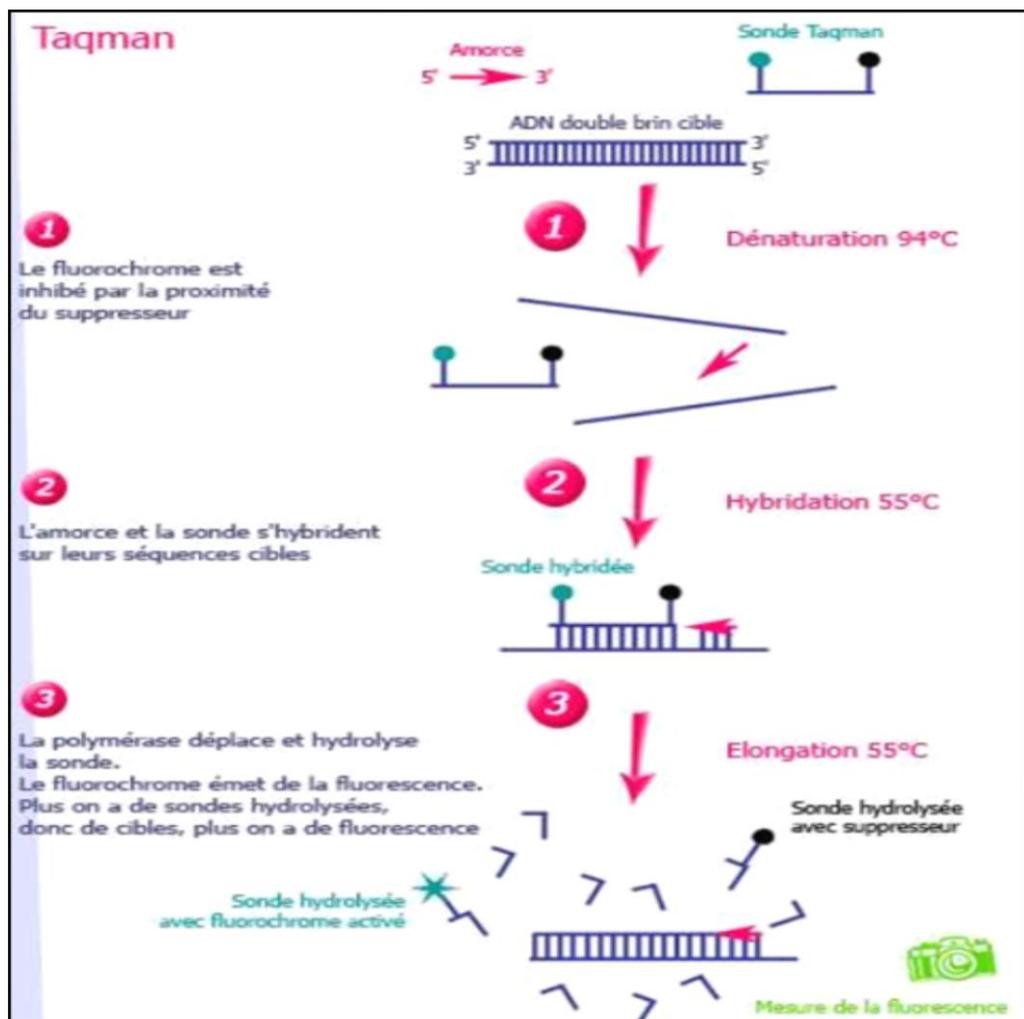


Figure 23 : Principe de la PCR en temps réel (Lancet 2014)

I.3 Les vaccins anti-HPV

L'importance épidémiologique de risque oncogène lié aux affections à HPV a suscité des recherches axées sur le développement de deux types de vaccins : le vaccin prophylactique, actuellement disponible, et des vaccins thérapeutiques, en cours de développement.

I.3.1 Vaccin prophylactique

Vaccins disponibles : Gardasil® anti HPV 16, 18, 6 et 11 quadrivalent (**Figures 24**), actif sur les condylomes acuminés (6 et 11), Le Gardasil® est injecté à J0-M2-M6 et le Cervarix® à J0-M1-M6. Les vaccins ne sont pas interchangeables et toute vaccination effectuée avec l'un d'eux doit être menée à terme avec le même vaccin. Ils n'ont pas d'efficacité chez les personnes ayant déjà été en contact avec le virus HPV.



Figure 24 : Gardasil, vaccin Anti-HPV type 6, 11, 16, 18 (*Christian 2016*)

Ce sont des vaccins recombinants non infectieux, préparés à partir de pseudo--particules virales (VLP pour Virus Like Particles) hautement purifiées de la principale protéine L1 de la capsid des HPV. Puisque les VLP ne contiennent pas d'ADN viral (**Figures 25, 26**), elles ne peuvent pas infecter les cellules, ni se multiplier, ni provoquer de maladie. L'injection intramusculaire est très immunogène et les anticorps protecteurs présents dans les sécrétions vaginales sont capables de capter des particules virales infectieuses. (*Sanjosé 2003*).

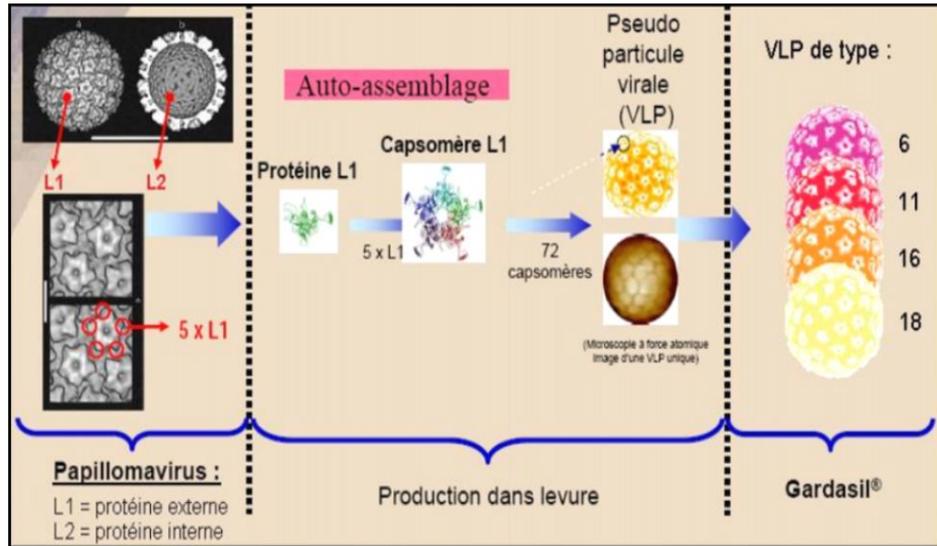


Figure 25 : Développement du vaccin prophylactique GARDASIL® contenant les VLP-L1 des HPV de type 6, 11, 16 et 18, protéines chimères exprimées au sein de *S. cerevisiae* (Nelly 2009)

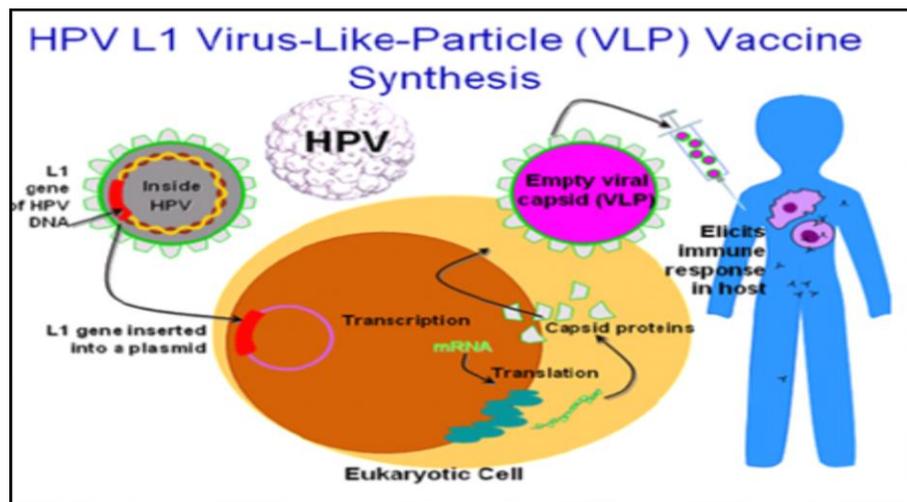


Figure 26 : Etapes de synthèse d'un vaccin prophylactique basé sur les VLP-L1 (Nelly 2009)

I.3.2 Vaccin thérapeutique

Il a pour but de stimuler la réponse immunitaire T-spécifique contre le HPV chez les patients déjà infectés par les papillomavirus afin de faire agresser des lésions présentes. Les antigènes viraux ciblés sont les protéines E6 et E7, responsables des propriétés oncogènes de ces virus (Zur Hausen 2002).

II.1 MATERIEL

II.1.1 LIEU ET DUREE DU TRAVAIL

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire Herpesvirus, Papillomavirus et autres du département de virologie, Institut Pasteur d'Algérie (IPA), sur une période s'étalant du 17/06/2018 au 22/09/2018, il s'agit d'une étude rétrospective sur des dossiers datant de janvier 2018 jusqu'au 17/06/2018 et une étude prospective sur des prélèvements de frottis cervicaux reçus entre le 17/06/2018 et le 30/07/2018.

-Nous avons 515 patientes concernées par cette étude rétro-prospective ou prospective, voire ci-contre.

Les 515 femmes sont adressées par différents centres médicaux de santé publique ou de médecins libéraux. Le mode de prélèvement est présenté en **annexe 01**.

Les motifs de consultation ont été indiqués sur les fiches de renseignements (**Annexe 02**) adressés par les gynécologues pour 347 femmes soit 67.4 %.

Les résultats de l'étude de ces fiches indiquent que les motifs de consultation des patientes sont :

- le dépistage
- l'hémorragie
- l'infection génitale
- les douleurs
- les antécédents de conisation
- l'hystérectomie
- le contrôle médical

II.1.2 Matériel non biologiques

Kits de réactifs pour Cobas 4800, PCR en temps réel, permettant la détection de l'ADN virale d'HPV-HR et génotypage partiel (16, 18 et autres).

II.1.3 Réactifs

- Kit de tampons de lavage
- Kit de préparation de cytologie liquide
- Protéinase K (PK)
- Réactif SDS
- Tampon de lyse
- Kit d'amplification/détection de HPV
- Master mix (HPV MMX)
- HPV Mg/Mn
- HPV (+) C (Contrôle positif au HPV)
- Tampon Tris-HCl EDTA
- HPV(-) C (Contrôle négatifs au HPV)

Les appareils et le logiciel sont présentés dans **l'annexe 3**.

II.2 MÉTHODE

Notre travail passe par les étapes suivantes :

- Préparation des échantillons
- Vérification des logiciels
- Préparation des réactifs et lecture des code-barre des réactifs
- Réglage du système et choix de types de analyses « HPV High Risk Panel Plus Genotyping »
- Chargement des contrôles HPV(+) C et HPV(-) sur le portoir des réactifs au cours du chargement de réactifs
- Extraction de l'ADN
- Amplification et à la détection des ADN cibles
- La détection d'ADN amplifié (amplicon) et interprétation des résultats:

II.2.1 Préparation des échantillons

Les prélèvements cervicaux sont étiquetés d'un code-barre puis vortexés. Les prélèvements en milieu Preservcyt® ou Cobas® (**Annexe 4**) ayant un volume compris entre 1 et 3 mL sont transvasés dans un tube secondaire.

Il faut toujours passé chaque tube sur le vortex pendant 30 secondes.

II.2.2 Vérification et contrôle du Cobas :

Le logiciel 2.1 permet de réaliser une maintenance, (quotidienne ou hebdomadaire) de COBAS 4800 afin de contrôler et s'assurer qu'il n'y a pas de problèmes sur ce dernier.

II.2.3 Préparation des réactifs et lecture des code-barre des réactifs

Suivant les commandes données par le logiciel du système Cobas 4800, il faut mettre tous les réactifs par ordre tout en vérifiant le code -barre (**Figure 27**).

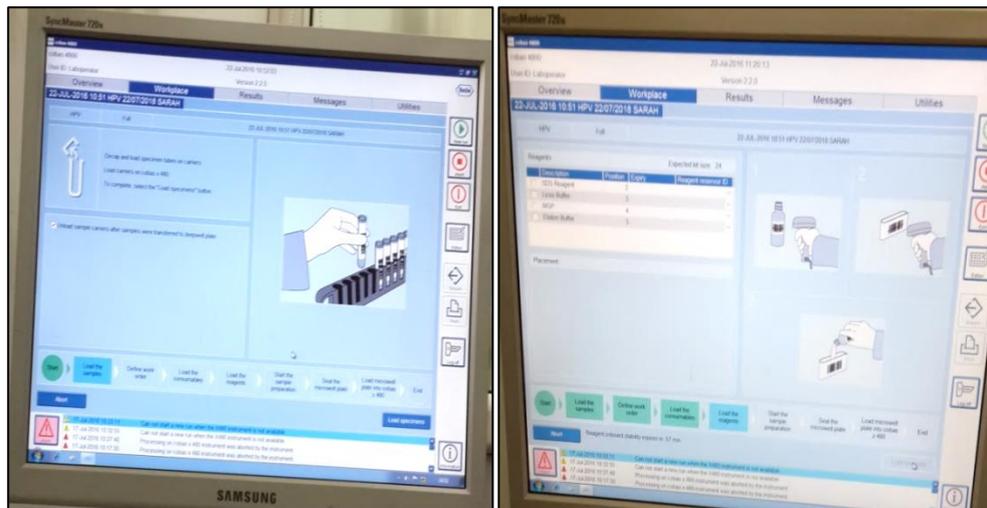


Figure 27 : Fenêtre de logiciel de système Cobas 4800 (Originale 2018)

II.2.4 Réglage du système et choix de types de analyses « HPV High Risk Panel Plus Genotyping »

Nous avons choisi aussi le type analyses recherché « HPV High Risk Panel Plus Genotyping » pour signaler les résultats de test qui présentent un type ou une combinaison de HPV à haut risque de types : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 et pour signaler séparément les résultats de test qui présentent le HPV à haut risque de type 16 et celui de type 18.

II.2.5 Chargement des contrôles HPV(+) C et HPV(-) sur le portoir des réactifs au cours du chargement de réactifs

Le chargement des contrôles HPV(+) C et HPV(-) C sur le portoir des réactifs se fait au cours du chargement de réactifs suivi de réactifs (WB, MGP, EB, SDS et LYS) la figure illustrant ces réactifs est en **annexe 5**.

- Les codes-barres du réservoir de réactif doivent être alignés à droite du portoir.

On doit charger aussi les réactifs de l'amplification et de détection (HPV MMX et HPV Mg/Mn), les contrôles HPV (+) C et (-) C et la PK directement sur le portoir de réactifs et scannés par l'instrument cobas x 480 automatiquement (**Figure 28**).

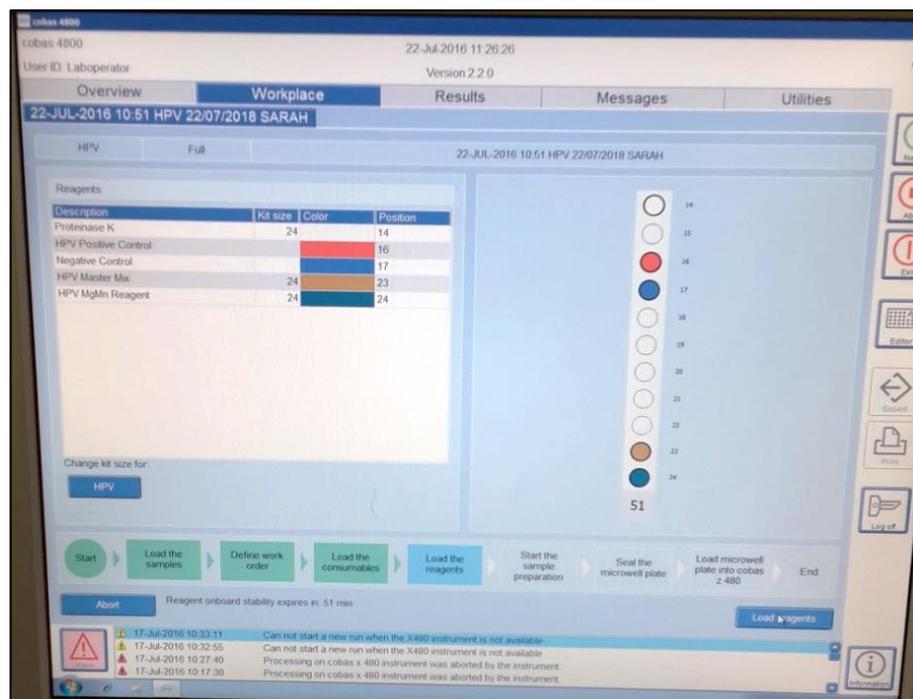


Figure 28 : Commende de chargement des réactifs HPV MMX et HPV Mg/Mn et les contrôles HPV (+) C et (-) C et la PK (Original2018)

II.2.6 Extraction de l'ADN

L'Extraction de l'ADN d'HPV et l'ADN cellulaire β -globine a été réalisée sur le Cobas X480 et dure 1hr30 min Annexe 6 Les prélèvements cervicaux recueillis dans le milieu de conservation PC sont digérés en conditions dénaturantes à des températures élevées entre 50° à 55° puis lysés en présence de réactif chaotropique.

Les acides nucléiques de HPV libérés, ainsi que l'ADN de β -globine servant au contrôle du processus, sont purifiés par absorption vers des particules de verre magnétiques, lavés puis séparés de ces particules afin de les préparer à l'amplification et à la détection.

II.2.7 Amplification et à la détection des ADN cibles

La deuxième étape correspond à l'amplification et à la détection de ces ADN en même temps (PCR en temps réel). Elle se fait sur le Cobas® z 480 (Thermocycleur) pour 240 prélèvements durant 1h56 min. Amplification par PCR en temps réel de séquences d'ADN cibles :

Le test Cobas® 4800 utilise des amorces qui définissent une séquence d'environ 200 nucléotides dans la région L1 et permettent l'amplification de l'ADN de 14 types d'HPV à haut risque à la fois.

Une paire supplémentaire d'amorces, cible le gène β -globine humain (amplicon de 330 pdb), afin de contrôler le bon déroulement de la PCR.

L'utilisation de l'ampérase est dans le but d'enlever tout ADN contaminant non amplifiable avant l'étape de thermocyclage.

II.2.8 La détection d'ADN amplifié (amplicon) et interprétation des résultats

1. La détection d'ADN amplifié (amplicon) est effectuée lors du thermocyclage (pendant l'amplification) à l'aide de sondes oligonucléotidiques marquées par quatre fluorophores différents. Le signal amplifié de douze types

CHAPITRE II | MATÉRIELS ET MÉTHODES

de HPV à haut risque (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) est détecté à l'aide du même fluorophore, tandis que les signaux de HPV16,

HPV18 et de β -globine sont respectivement détectés à l'aide d'un fluorophore qui leur est propre.

2. Exemple de 22 prélèvements l'analyses (**Figure 29 et 30**), nous avons trouvé qu'un seul prélèvement qui porte le HPV positif (POS Other HR HPV) et les restes sont HPV négatifs (de type 16/18 et autres).

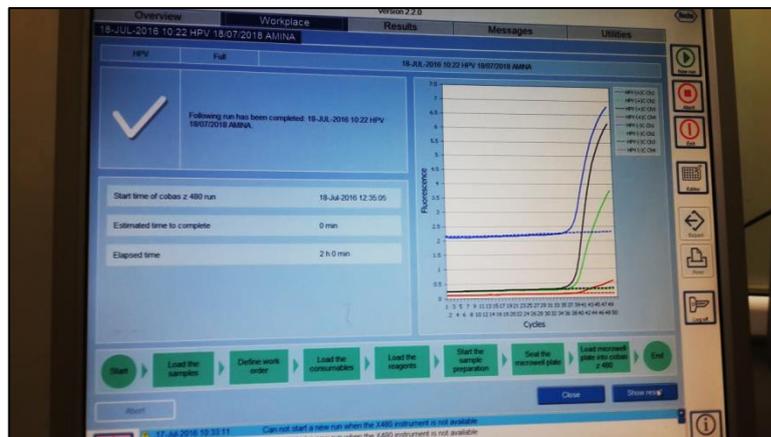


Figure 29 : Fenêtre de logiciel de système COBAS 4800 représente le graphe des résultats de détection des génotypes d'HPV haut risque (Originale 2018)

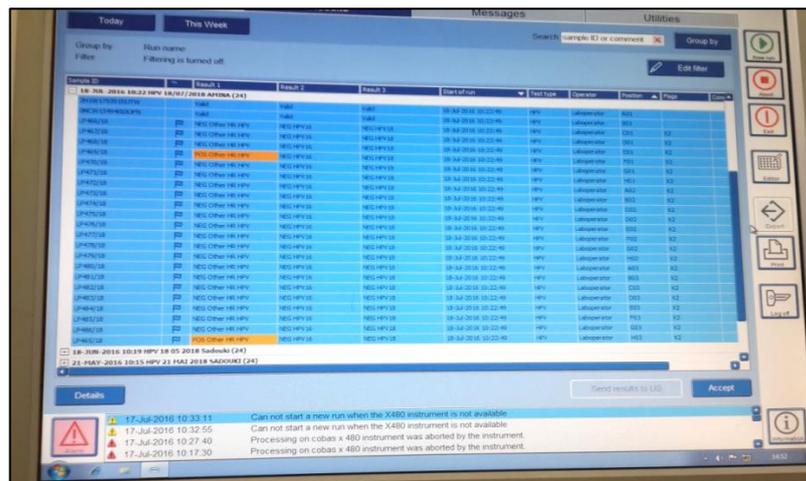


Figure 30 : Fenêtre de logiciel de système COBAS 4800 représente le tableau des résultats de détection des génotypes d'HPV haut risque (Originale 2018)

L'amplification progresse, les sondes qui sont complémentaires de l'amplicon lié préalablement à des séquences d'ADN simple-brin spécifique et sont clivées par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase EagleZ05.

Une fois que le fluorophore servant de rapporteur est séparé du quencher par son activité nucléase (**Figure 31**), il émet une fluorescence d'une longueur d'onde caractéristique lorsqu'il est excité par un spectre de lumière approprié. Cette longueur d'onde caractéristique pour chaque fluorophore permet la mesure indépendante de l'amplicon de HPV16, de l'amplicon de HPV18 et d'autres amplicons HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68), ainsi que du contrôle de β -globine car les sondes spécifiques à ces séquences sont marquées par différents fluorophores.

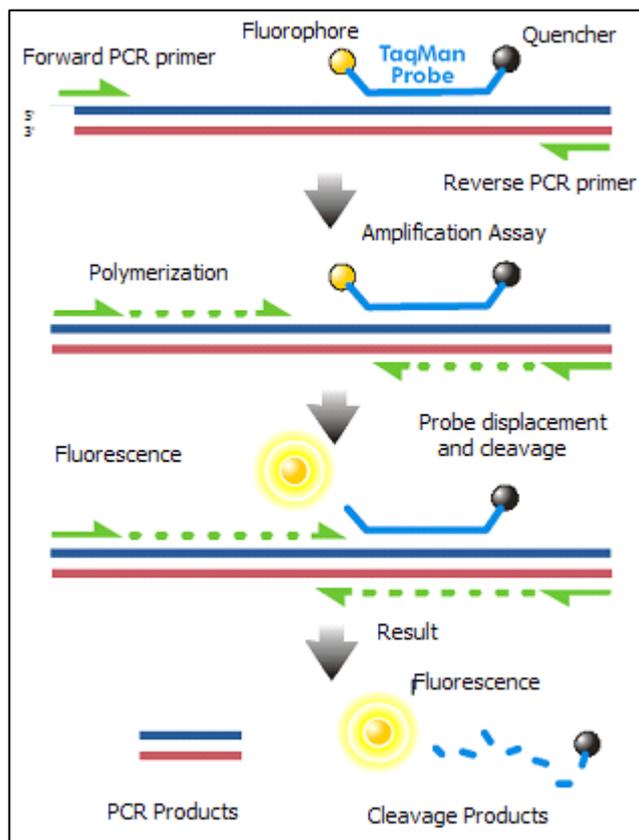


Figure 31: Mécanisme de l'émission de fluorophore (Bustin, 2000)

III. Résultats et discussion

Nous rappelons que la population qui a servi à notre étude se constitue de 515 femmes adressées au laboratoire Herpesvirus, papillomavirus de l'Institut Pasteur d'Algérie pour un dépistage génomique de l'infection à papillomavirus.

Le dépistage de l'HPV au niveau des prélèvements génitaux a été effectué par une méthode PCR en temps réel permettant le dépistage et le génotypage.

Nous présenterons nos résultats comme suit :

- résultats de la population étudiée
- résultats des explorations autres que le test HPV
- résultats du dépistage HPV par PCR en temps réel

III.1 Provenance des prélèvements

Les 515 femmes pour le dépistage de l'HPV ont été adressées par différentes régions d'Algérie. Les prélèvements ont été adressés par différents centres médicaux de santé publique ou de médecins libéraux. Les résultats sont présentés dans le **tableau VII** et la **figure 32**.

Tableau VII: Provenance des 515 prélèvements génitaux

Expéditeur	Nombre de Prélèvements	Pourcentage
Externes	397	77,1%
CHU Beni Messous	16	3,1%
CHU Douera	15	2,9%
EPH Kouba	13	2,5%
EPSP Draria	23	4,5%
Autres structures publiques	51	9,9%
Total	515	100%

Nous remarquons que 77,1% des prélèvements sont adressés par les structures privées de gynécologie. Le secteur public représente 22.9%. La liste des structures privés et des structures de santé publique est présentée en **annexe 7**.

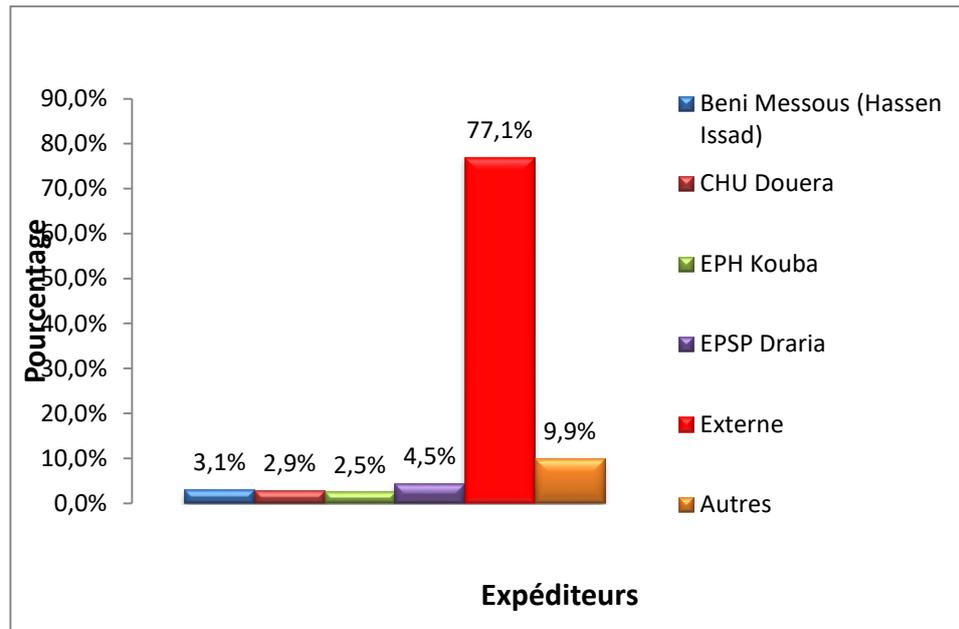


Figure 32 : Répartition des 515 prélèvements des femmes adressées par différents centres médicaux de santé publique ou de médecins libéraux

Dans 77,1% des cas les patientes ont été adressées par des structures de santé privés “Externes”. En général, les femmes consultent chez les gynécologues privés pour la facilité et l’accessibilité aux soins. Elles s’adressent à l’hôpital quand elles se retrouvent avec des lésions importantes dans le but d’une prise en charge adéquate et spécialisée. L’origine des prélèvements est variable les régions et les pays.

III.2 Répartition des prélèvements selon l’âge

L’âge de nos patientes se situe entre 22 ans et 77 ans. La moyenne d’âge est de 49.5 ans.

40,9% des femmes ont un âge compris entre 50-77 ans. L’âge de 2 patientes n’est pas précisé. La répartition des 513 femmes en fonction de l’âge est représentée dans la **figure 33**.

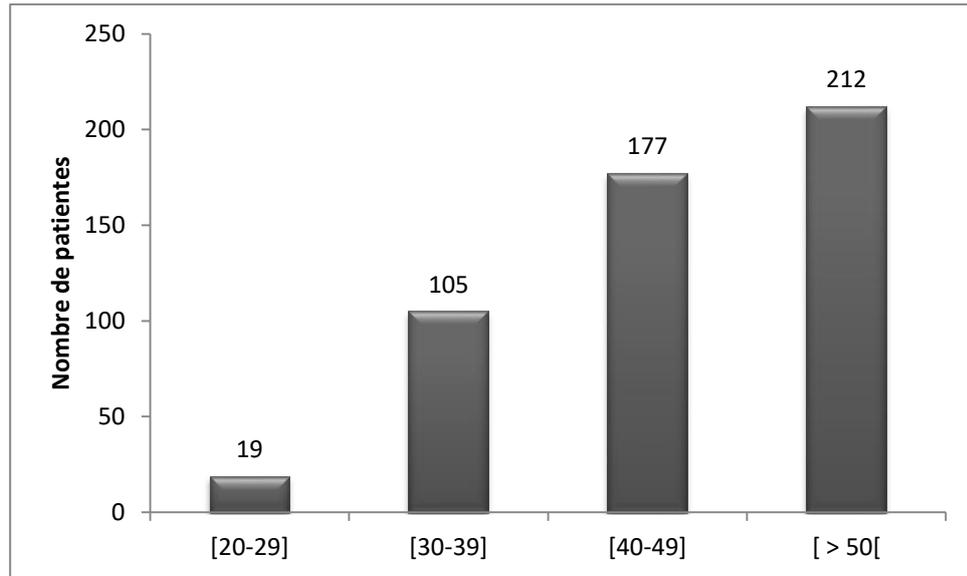


Figure 33 : Répartition des 513 patientes en fonction de l'âge

Notre population est définie par une tranche d'âge qui se situe au-delà de 30 ans avec une prédominance entre 50 et 77 ans (40,9%). Ceci est du probablement à l'âge tardif du début de l'activité sexuelle contrairement aux pays occidentaux.

En France l'âge moyen des patientes diagnostiquées CIN est en baisse, il est passé de 35.5 ans en 1989 (Boulanger et *al*, 1989) à 29.7 ans en 2004 (Marchetta et *al*, 2009).

III.3 Nombre de grossesse et de parités des patientes dépistées

Parmi les femmes adressées pour le test HPV nous notons que :

- 367 femmes ont eu entre 1-5 grossesses
- 102 femmes ont eu 6 à 10 grossesses
- 9 femmes ont eu plus de 10 grossesses
- 26 femmes n'ont pas eu de grossesses

Nous n'avons pas eu de renseignements concernant 11 femmes

Les résultats du nombre de grossesses et de parités sont présentés sur le **tableau VIII** et la **figure 34**.

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau VIII: Nombre de grossesses et de parités pour les femmes dépistées

L'âge des femmes	Nombre de grossesses par femme	Nombre de femmes	Pourcentage
[26-66] ans	0 grossesse	26	5.1
[22-71] ans	[1-5]	367	71.3
[38-77] ans	[6-10]	102	19.8
[42-72] ans	[>10[9	1.7
[34-53] ans	Indéterminé	11	2.1
/	Total	515	100

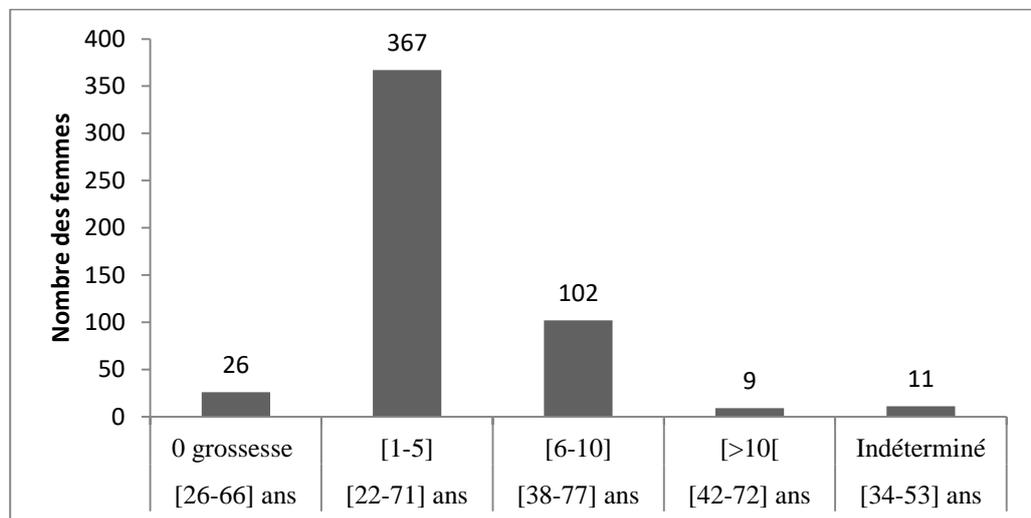


Figure 34 : Nombre de grossesses des femmes dépistées

Certaines différences ont été observées dans la répartition du nombre de grossesse et de parité qui montrent que le nombre de grossesses le plus fréquent est situé entre 1 à 5 enfant (71.3%). Ce facteur peut être considéré comme favorable à l'infection HPV et pourrait être expliqué par le fait qu'au niveau du col il existe des remaniements visibles sur l'exocol qui pendant la puberté ou la grossesse s'élargit et augmente donc la sensibilité à l'infection par l'HPV. Les versions de l'épithélium cylindrique pendant la grossesse laissent apparaître de l'épithélium métaplasique immature susceptible aux transformations cellulaires (*J.-R. GIRAUD et al.*).

Ceci est en contradiction, Comparé au faible nombre de grossesses chez les femmes occidentales qui présentent un taux de lésions plus important. Le facteur grossesse ne semble probablement pas être un fort argument pour le développement de lésions à lui seul.

Nos résultats montrent que l'âge de début de l'activité sexuelle est de 22 ans. En France l'âge moyenne de 1^{er}s rapports sexuels est de 18 ans et demi, contrairement, dans les pays de l'Extrême-Orient asiatique qui montrent qu'ils sont moins portés sur la chose, avec 22 ans (Ladoy, 2017).

III.4 Exploitation des renseignements cliniques des patientes dépistées

Les résultats indiquent que :

- Un taux de 98.6 % (508 /515) des femmes ont bénéficié d'un frottis cervico-utérin (FCU), 70,7% (364 /515) d'une colposcopie et 37,1 % (191 /515) d'une biopsie pour une étude anatomo-pathologique.

Pour certaines femmes les tests de colposcopie, de biopsie et de FCU ont été effectués en 2017. Les résultats sont présentés dans la **figure 35**.

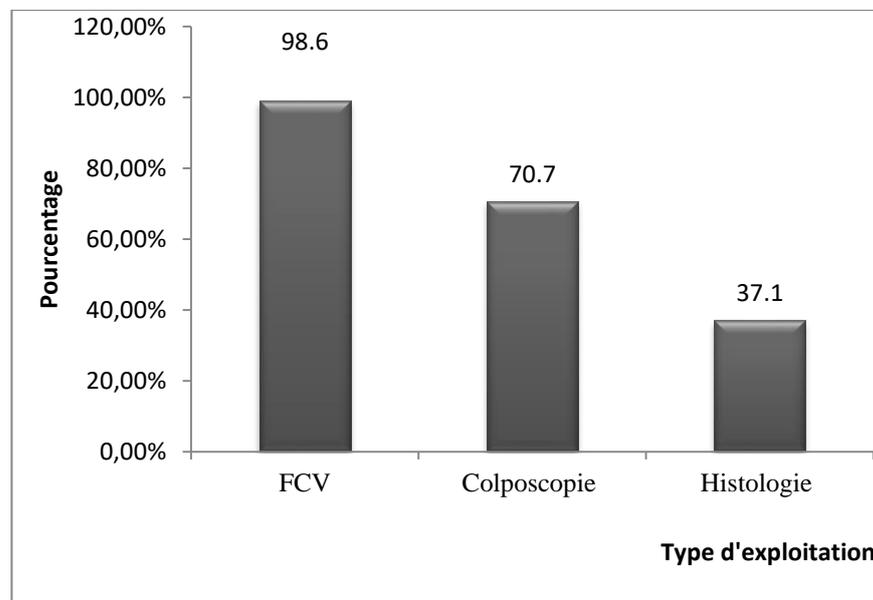


Figure 35: Exploitation des renseignements cliniques par examen effectué (certaines patientes non montrés ici ont eu deux ou les trois examens à la fois)

Le frottis cervico-utérin de dépistage a été réalisé chez 98.6 % de nos patientes. Le dépistage basé jusqu'à ces dernières années sur l'étude cytologique du Frottis Cervico-Utérin (FCU) réalisé à intervalle régulier dans la vie d'une femme pourrait conduire à un recul important de l'incidence de la maladie.

L'objectif du dépistage est de détecter des lésions de petites tailles, pré-néoplasiques (précancéreuses), afin de limiter les évolutions vers des cancers invasifs et difficiles à maîtriser. Le médecin demande un test HPV en cas de présence des signes suspects.

Le frottis cervico-vaginal constitue la meilleure façon de dépister les lésions précancéreuses du col de l'utérus. Il est donc important de le proposer systématiquement aux femmes en activité sexuelle (*ANAES et al. 2002*).

Le dépistage HPV reste l'examen tranchant nécessaire pour un diagnostic final. Il permet la confirmation de la présence de l'HPV et par la technique que nous avons utilisé, et également un génotypage.

III.5 Résultats du test HPV dans les prélèvements génitaux

L'étude des 515 prélèvements par PCR en temps réel pour le dépistage de l'HPV à haut risque (HPV HR) montre que (**Figure 36**) :

- 34 (6,2%) sont positifs en ADN de l'HPV,
- 481 (93,8 %) sont négatifs en ADN de l' HPV.

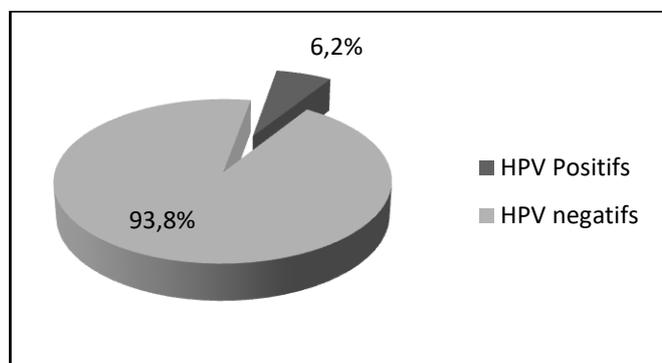


Figure 36: Résultats du test HPV dans les prélèvements cervicaux

III.5.1 Résultats du génotypage HPV par PCR en temps réel

Les résultats du génotypage HPV indiquent la présence d'HPV 16, 18 et autres HPV HR dans 34 prélèvements. Les autres HPV HR sont représentés par les génotypes 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68. Ces génotypes sont donnés en pool par l'appareil Cobas 4800. Les résultats sont dans le présentés tableau **IX** et la **figure 37**.

Tableau IX: Résultats du génotypage HPV HR par PCR en temps réel

Génotypes	Seuls	associés	Seuls et associés
	Nombre (%)	Nombre (%)	Nombre total (%)
HPV 16	8 (23,5%)	1 (2,9%)	9 (26.5%)
HPV 18	2 (5,9%)	1 (2,9%)	3 (8.8%)
Autres types HPV	20 (58,8%)	2 (5,9%)	22 (64.7%)
Total	30 (88,2%)	4 (11,8%)	34 (100%)

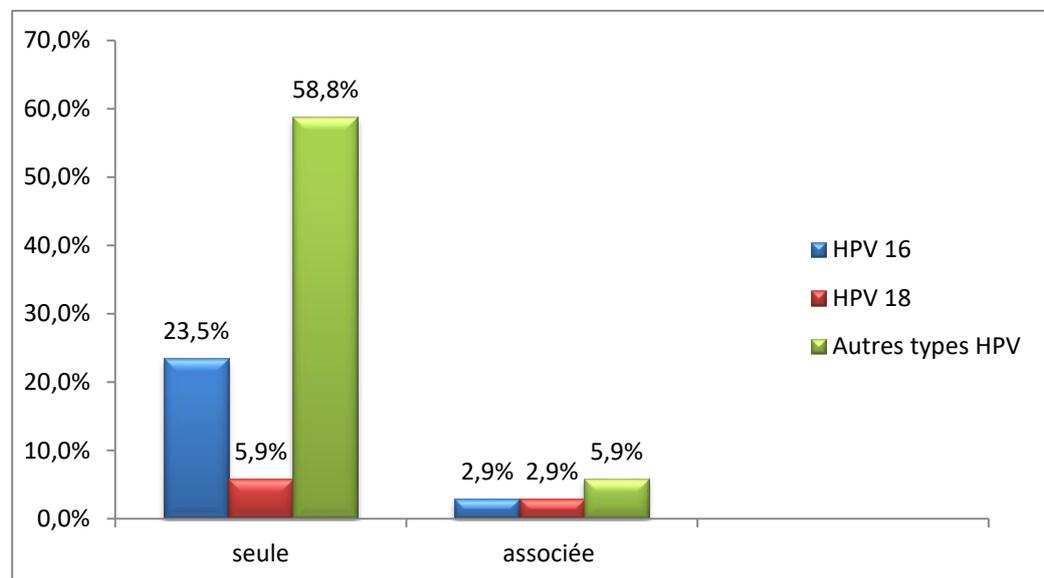


Figure 37 : Répartition des génotypes d'HPV haut risque (16, 18 et autres) seuls et associés

Au niveau mondial, la prévalence globale de l'HPV HR est de 10,4 %. (Karly al., 2008).

Dans notre étude le pourcentage d'HPV HR chez les femmes dépistées est de 6,2%. Nos résultats concordent avec ceux du *Pr Hammouda* de l'INSP en Algérie (Zéralda) qui rapporte, dans une étude de 2011 réalisée sur 796 prélèvements, que la prévalence de l'HPV HR est de 6.3%.

La répartition des résultats positifs selon les génotypes d'HPV haut risque indique que l'HPV 16 est présent seul ou associé dans 26,5% et l'HPV 18 dans 8,8%, donc les génotypes 16 et 18 sont présents dans 35,3% des cas. Les génotypes 16 et 18 sont responsables, à eux seuls, de plus de 70% des lésions précancéreuses et cancéreuses (*Muñoz et al. 2004*).

Dans notre série la prévalence des génotypes sans association de HPV 16 est de 23,5%, elle est plus importante que celle de l'HPV 18 (5,9%). Ces résultats concordent également avec ceux rapportés par *Hammouda* en 2004 (HPV 16 le plus répandu suivi par le HPV 18 et 45). Ainsi qu'une estimation menée dans 22 pays situés en Europe, en Afrique, en Asie et en Amérique (Munoz et al., 2013), a montré une prédominance d'HPV 16 (50 à 60%) dans les cancers invasifs du col de l'utérus, suivie d'HPV 18 (10 à 12%) puis des HPV 31, 45 et 33 (moins de 5% chacun).

III.5.2 Résultats du test HPV dans les prélèvements étudiées par la cytologie

L'étude des dossiers médicaux montre que 98,6% (508 /515) des femmes ont eu un FCU.

Les HPV HR ont été retrouvés dans des lésions différentes (FCU),

III.5.3 Résultats d'HPV dans les prélèvements étudiées par la cytologie en fonction de l'âge

Nous avons constaté que l'âge des patientes ayant bénéficié d'un FCU se situe au-delà de 30 ans (**Figure 38**).

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats montrent que les LBG sont les plus fréquentes pour toutes les tranches d'âge.

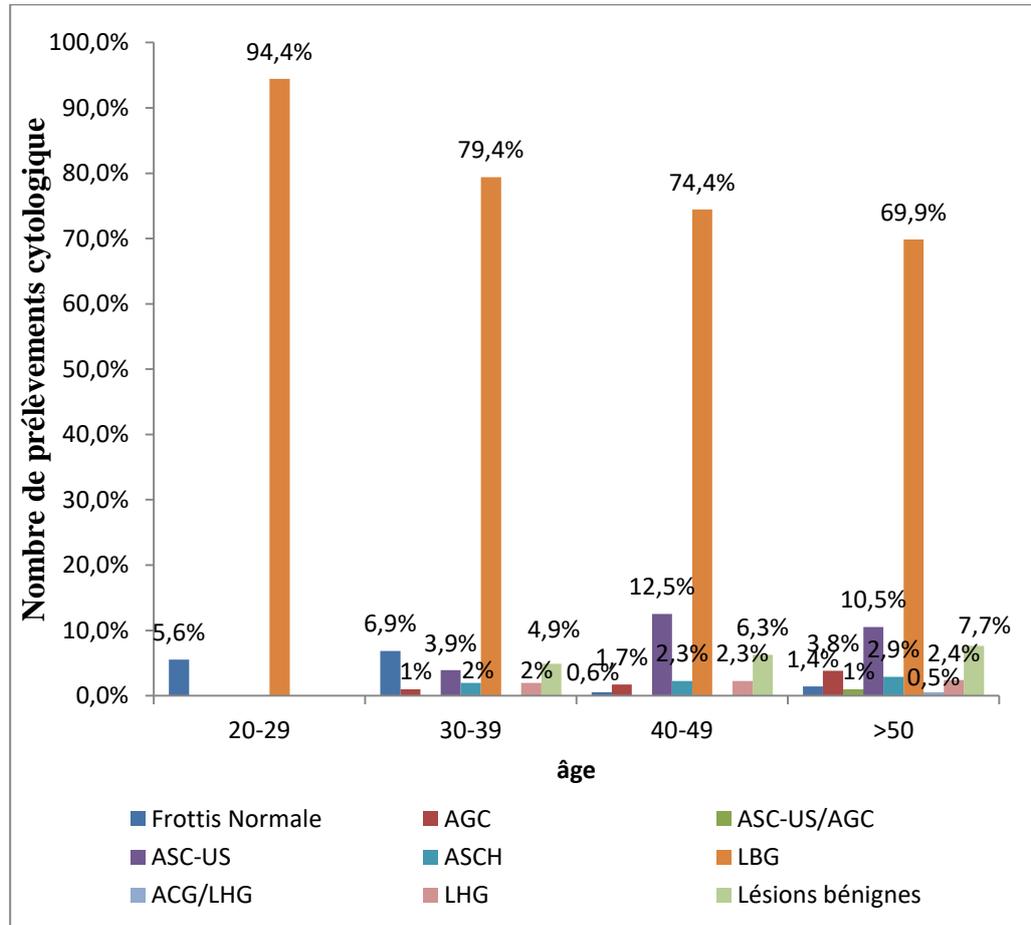


Figure 38 : Nombre des prélèvements cytologique en fonction de l'âge

III.5.4 Résultats du test HPV selon le FCU

D'après l'étude les dossiers médicaux les résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans les cas suivants :

- LHG: 50, 0%
- ASCH: 25, 0%
- Frottis normal: 7, 7%
- AGC: 7, 1%
- LBG: 5, 1%
- ASC-US: 4, 1%.
- lésions bénignes 3.1%

Ces résultats sont présents dans le **tableau X**.

Tableau X: Résultats du test HPV dans le FCU

FCU	HPV	HPV +	HPV -	n
Frottis Normale		1 (7,7%)	12 (92,3%)	13
AGC		1(7,1%)	13 (92,9%)	14
ASC-US		2 (4,1%)	47 (95,9%)	49
ASCH		3 (25,0%)	9 (75,0%)	12
LBG		19 (5,1%)	356 (94,9%)	375
LHG		6 (50,0%)	6 (50,0%)	12
Lésions bénignes		1(3,1%)	31 (96,9%)	32
LHG/AGC		1(100%)	0	1
Total		34 (6,7%)	474 (93,3%)	508

-2 frottis Vaginal.

-1 à une antécédente : hystérectomie totale 2016.

-1 à une antécédent : une hystérectomie pour carcinome du col en mai 2016 précédé d'une radiothérapie en 2015.

Nos résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans 6,7% des cas ayant bénéficié d'un FCU (Figure 39).

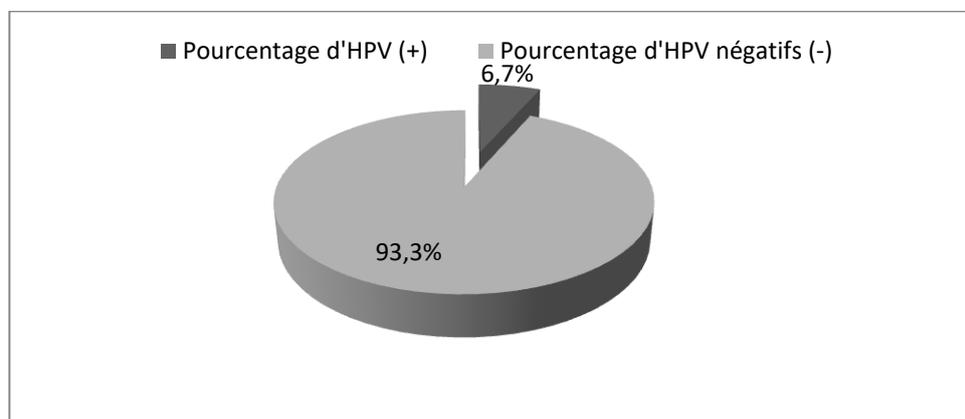


Figure 39 : Résultats global du test HPV selon le FCU

Le dépistage de cancer du col de l'utérus basé, jusqu'à ces dernières années, sur l'étude cytologique du Frottis Cervico-Utérin (FCU), qui doit être réalisé à intervalle régulier dans la vie d'une femme pourrait conduire à un recul important de l'incidence de la maladie, le dépistage du frottis en France est

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

recommandé pour les femmes âgées de 25 à 65 ans. La couverture du dépistage par frottis varie en fonction de l'âge (*Oussaid et al., 2013*).

Le frottis cervico-utérin de dépistage a été réalisé chez 98,6 % de nos patientes, il constitue la meilleure façon de dépister les lésions précancéreuses du col de l'utérus. Il est donc important de le proposer systématiquement aux femmes en activité sexuelle.

La sensibilité du frottis cervico-utérin (FCU) est de 57 %, de nombreuses études confirment que sa sensibilité est meilleure chez les femmes de plus de 50 ans (*Fahey et al., 2000*).

III.5.5 Résultats des génotypes d'HPV selon le FCU

Les résultats du génotypage d'HPV selon le FCU sont portés sur le **tableau IX** et la **figure 40**:

Les résultats montrent que :

-HPV 16 est présent seul ou associée dans 27,8% selon le FCU.

-HPV 18 est présent seul ou associée dans 8,3% selon le FCU.

-HPV autres types sont présents seuls ou associés dans 63,9% selon le FCU.

Tableau XI: Résultats du génotypage d'HPV dans le FCU

FCU	HPV 16	HPV 18	Autres types HPV	HPV Positifs associée ou seul
Frotts Normale	0 (00,0%)	0 (00,0%)	1 (2,8%)	1 (2,8%)
AGC	0 (00,0%)	0 (00,0%)	1 (2,8%)	1 (2,8%)
ASC-US	0 (00,0%)	0 (00,0%)	2 (5,6%)	2 (5,6%)
ASC-H	1(associée) (2,8%)	0 (00,0%)	3(1 associée) (8,3 %)	4 (11,1 %)
LBG	5 (13,9%)	3 1associée) (8,3%)	12 (33,3%)	20 (55,6%)
LHG	3 (8,3%)	0 (00,0%)	3 (8,3%)	6 (16,7%)
Lésion bénigne	0 (00,0%)	0 (00,0%)	1 (2,8%)	1 (2,8%)
AGC/ASC-US	0 (00,0%)	0 (00,0%)	0 (00,0%)	0 (00,0%)
LHG/AGC	1 (2,8%)	0 (00,0%)	0 (00,0%)	1 (2,8%)
Total	9 (27,8%)	3 (8,3%)	22 (63,9%)	34 (100%)

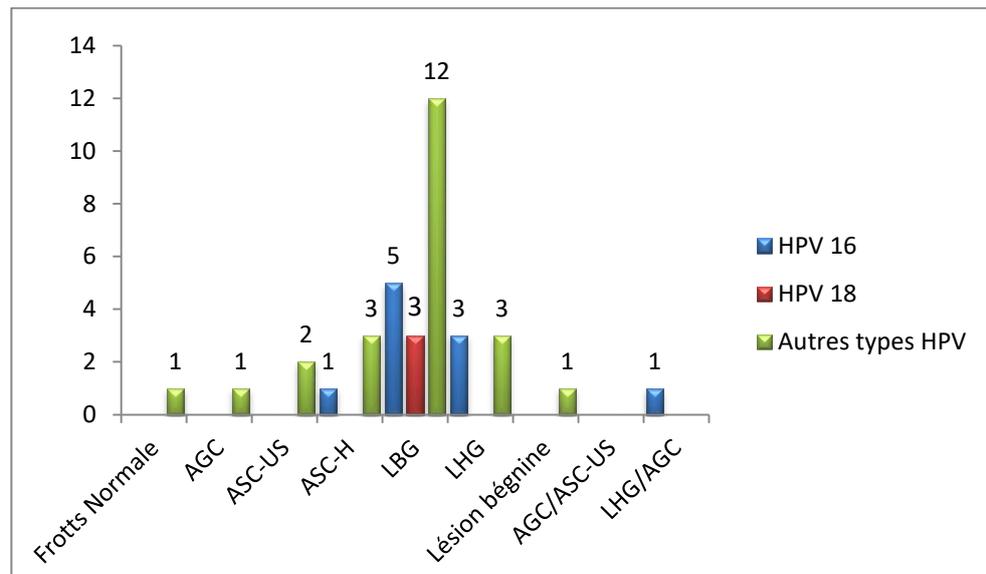


Figure 40 : Résultats du génotypage d'HPV selon le FCU

La sensibilité d'un test combiné frottis + un test HPV est d'environ 30 à 35 % supérieure à celle du frottis seul pour les lésions de haut grade (*Cuzick et al. 2008*).

Des essais indiquent que le risque relatif pour la détection des lésions haut grade avec un test ADN HPV à la première visite est de 1,6 comparé à la cytologie seule signifiant que le test HPV détecte instantanément 60 % de plus de CIN de Haut Grade (CIN HG) comparé à la cytologie (*J. Monsonogo 2012*).

Nos résultats de génotypage de l'HPV en fonction de test FCU montrent que l'HPV 16 soit présent dans (13,9%) des LBG, (8,3%) des LHG, (2,8%) des LHG/AGC et dans (2,8%) associée des ASC-H. L'HPV 18 est présent dans (8,3%) associées des LBG, et l'HPV autres types est présent dans (33,3%) des LBG, (8,3%) des LHG, (5,6%) des ASC-US, et dans (2,8%) des AGC, (2,8%) des frottis normale et (2,8%) des Lésions bénignes.

Le dépistage de l'HPV est meilleur lorsqu'on associe le FCU avec le test HPV. *KHENCHOUCHE A.* à Sétif, en 2014 a déduit la même chose où il a dit que " Le test HPV a fait la preuve d'une meilleure sensibilité que le FCU, mais d'une spécificité plus faible. L'association du FCU avec le test HPV est un moyen de dépistage performant optimisé et plus rapide et que le schéma de dépistage idéal semble être la pratique du test HPV en dépistage primaire".

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

Cette idée n'est pas acceptée par tous les professionnels de santé aussi bien en Algérie qu'au niveau d'autres régions du monde.

III.5.6 Résultats du test HPV selon la colposcopie

L'étude des dossiers médicaux montre que 70,7% (364/515) des femmes ont eu une colposcopie; Dans 2 cas les résultats de la colposcopie sont :

2 cas : Fait le test colposcopie mais le médecin n'a pas donné les résultats (RAS).

1 cas : résultat non disponible.

Les résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans :

-**TAG1 à 2**: 33,3% HPV (+) sur 0,8% des résultats de test colposcopie qui présentent TAG 1 à 2.

-**Colposcopie normale** : 11,5% HPV (+) sur 7,2% des cas normales.

-**Déficiente** : 10,7% HPV (+) sur 7,8% des résultats déficientes.

-**TAG1** :5,7% HPV (+) sur 24,4% des résultats qui présentent TAG1.

-**Lésions divers** : 4,0% HPV (+) sur 41,3% des résultats qui présentent lésion divers.

Les résultats sont représentés dans le **tableau XII** :

Tableau XII: Résultats du test HPV selon la colposcopie

	Nombre	Pourcentage des résultats de Colposcopie	HPV (+)	HPV (+)%	HP V(-)	HPV (-)%
TAG1	88	24,4%	5	5,7%	83	94,3%
TAG2	20	5,6%	0	0,00%	20	100,00%
Minor changes	1	0,3%	0	0,00%	1	100,00%
Ectropion	30	8,31%	1	3,3%	29	96,7%
TNE	15	4,1%	0	0,00%	15	100,00%
TAG1 à 2	3	0,8%	1	33,3%	2	66,7%
TAG3	1	0,9%	0	0,00%	1	100,00%
Normale	26	7,2%	5	19,2%	21	80,8%
Déficiente	28	7,8%	3	10,7%	25	89,3%
Lésions diverses	149	41,3%	6	4,0%	143	96,0%
Total	361	100%	21	5,8%	340	94,2%

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

Nos résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans 5,8% (21) des cas qui font la colposcopie (**Figure 41**).

Les résultats colposcopie normale montrent qu'il y a une discordance entre le frottis et la colposcopie.

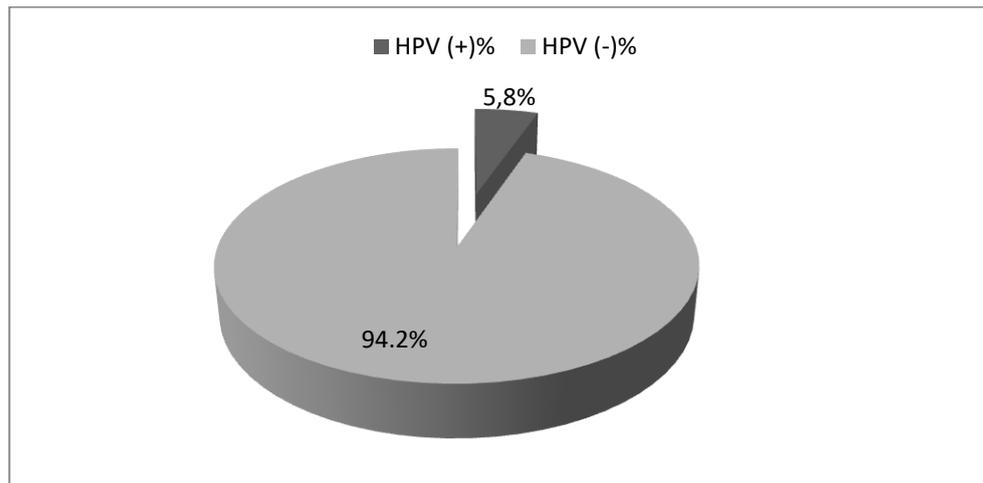


Figure 41: Résultats du test HPV selon la colposcopie.

En Algérie les gynécologues utilisent la classification de la SFCPCV (Société française de colposcopie et de pathologie cervico-vaginale), qui a été instaurée par le Dr Coupez dès 1983.

Elle se veut synthétique sous forme de tableaux colposcopiques précis : TAG I et TAG II qui augurent le plus souvent de la sévérité ou non des lésions avec une excellente corrélation colpo-histologique (*Boulangier JC*) : – TAG I : transformation atypique de grade I (a, b), – TAG II : transformation atypique de grade II (a, b, c).

Pour la classification des Minor change c'est une nouvelle classification récemment utilisée par certains gynécologues. Elle est de la Fédération Internationale de Pathologie Cervico-vaginale et de Colposcopie -Rio de Janeiro 2011.

Nos résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans 5,8 % des cas qui font la colposcopie.

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

L'inconvénient majeur de la colposcopie est la variabilité intra- et inter-observateurs. Cependant, elle reste une technique de référence car hautement sensible pour reconnaître les lésions de haut grade, bien que sa spécificité reste faible (inférieure à 50%) (*Mergui et al., 2008*).

III.5.7 Résultats du génotypage d'HPV selon la colposcopie

Les résultats du génotypage d'HPV selon le test Colposcopie sont portés sur le tableau **XIII**:

Tableau XIII: génotypage d'HPV selon la colposcopie

	HPV 16	HPV18	HPV autres	n
TAG1	3 (1 associée) (14,3%)	0	2 (1 associée) (9,5%)	5 (23,8%)
TAG2	0	0	0	0
Minor changes	0	0	0	0
Ectropion	1 (4,8%)	0	0	1 (4,8%)
TNE	0	0	0	0
TAG1 à 2	0	0	1 (4,8%)	1 (4,8%)
TAG3	0	0	0	0
Normale	0	0	5 (23,8%)	3 (37,5%)
Déficiente	1 (4,8%)	0	2 (9,5%)	0
Lésions diverses	1 (4,8%)	0	5 (32,8%)	6 (1,7%)
Total	3 (37,5%)	0	5 (62,5%)	21 (100%)

La spécificité du test colposcopique est très faible grâce à certaines situations particulières: grossesse, infection, ménopause non substituée, mais aussi suivi post-thérapeutique (*Baldauf JJ et al. 1997*).

La biologie moléculaire permet d'améliorer la spécificité de la colposcopie en première intention en cas d'ASCUS ; sa spécificité après le filtre d'un test HPV positif augmente de façon très significative.

Donc la colposcopie permet de confirmer l'existence d'une lésion du col suspectée par le FCU et surtout d'orienter la biopsie.

III.5.8 Résultats du test HPV dans les prélèvements étudiés par l’Histologie

Ces résultats montrent que l’HPV est présent dans:

- CIN 2 à CIN 3 : 100,0% HPV (+)
- CIN 1 à CIN 2 : 50,0% HPV (+);
- CIN3 50,0% HPV (+);
- Lésions minimales : 20,0% HPV (+);
- CIN2 : 9,1% HPV (+);
- CIN1:6,3% HPV (+);

Les résultats d’HPV sur les prélèvements histologiques sont présentés dans le **tableau XIV**:

Tableau XIV: Résultats de l’examen histologique en fonction de l’HPV

	HPV (+)	HPV (-)	Nombre des prélèvements	HPV (+) %	HPV (-)%
CIN1	10	150	160	6,2%	93,8%
CIN2	1	10	11	9,1%	90,9%
CIN3	1	1	2	50,0%	50,0%
Normale	0	2	2	0,0%	100,0%
Lésion minimale	1	4	5	20,0%	80,0%
Non concluante	0	2	2	0,0%	100,0%
CIN 1 à CIN 2	3	3	6	50,0%	50,0%
CIN 2 à CIN 3	1	0	1	100,0%	0,0%
Total	17	172	189	9%	91,0%

Nombre des prélèvements étudiés par **Cytologie =191** ; 2 résultats en cours de traité. La réparation de ces prélèvements est présentée dans la **figure 42**.

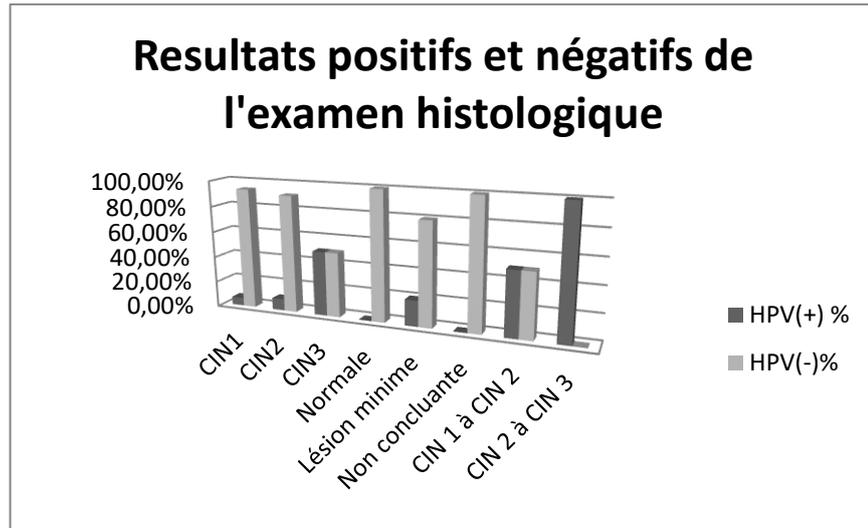


Figure 42 : Répartition des 189 prélèvements cervicaux en fonction de la détection des HPV-HR et du grade de lésion révélé par l'examen Histologique.

Nos résultats indiquent que l'HPV est retrouvé dans 9% des cas qui font l'examen histologique. (Figure 43).

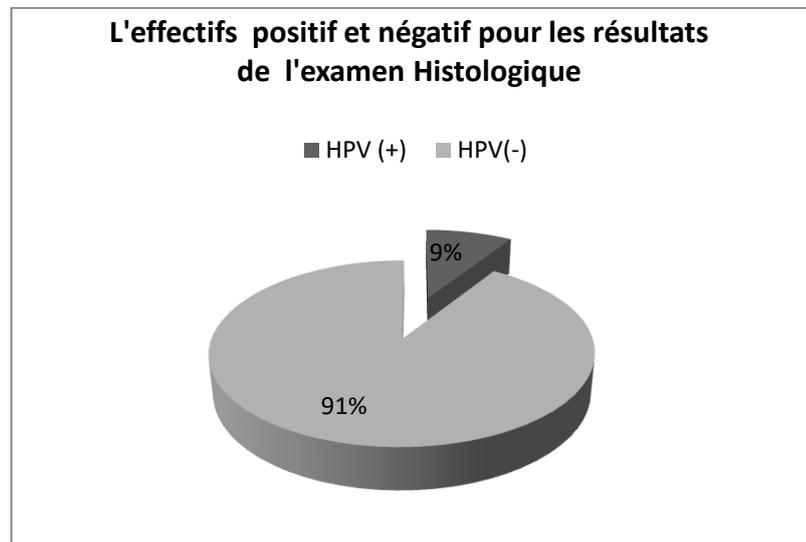


Figure 43 : L'effectif positif et négatif pour les résultats de l'examen Histologique.

Selon notre statistique des prélèvements étudiés par l'Histologie l'HPV est présente dans CIN ;

CHAPITRE III | RESULTATS ET DISCUSSION

- Les taux de lésions cervicales intraépithéliales de haut grade (CIN 2-3) est de 100%, devenues plus fréquentes que les cancers invasifs, sont un des indicateurs d'évaluation du dépistage du cancer du col de l'utérus.
- Toute lésion précancéreuse, et même une CIN 3, a une probabilité non négligeable (50 % selon la lésion) de régresser spontanément.

Dans notre étude la colposcopie a été réalisée chez 70,7% patientes dont 37,1% ont bénéficié d'une biopsie. Ses résultats concordent avec le protocole de suivi pour le dépistage actuel (**Figure 44**).

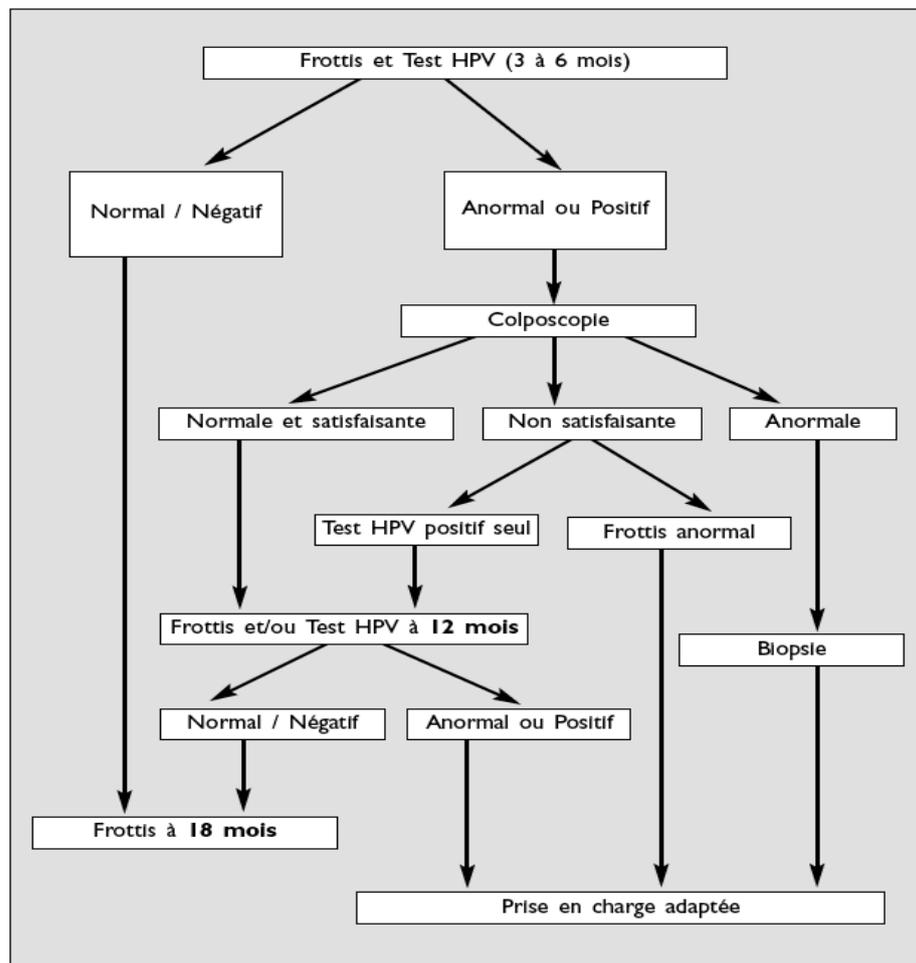


Figure 44 : Protocole de suivi pour le dépistage actuel (*www.CNGOF.asso.fr*, 2013).

CONCLUSION

Le cancer du col de l'utérus constitue un véritable problème de santé publique, surtout dans les pays en voie de développement où il représente la cause majeure de décès chez la femme.

Dans ce travail il est question d'évaluer la présence du HPV-HR dans une cohorte de 515 patientes et de définir les proportions des génotypes 16, 18 et autres types au sein de la population algérienne.

La technique PCR en temps réel totalement automatisé montre une forte sensibilité et spécificité permettant de diminuer le nombre de faux négatifs et faux positifs.

L'HPV-HR est présent dans 6,2% des patientes testées avec une prévalence HPV 16 (26,5%) plus importante que celle de l'HPV 18 (8,8%). Les autres HPV HR sont représentés par les génotypes 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68 forment en totalité (64,7%).

Comparé à la prévalence de l'HPV dans l'occident, l'implication de la grossesse dans l'évolution des lésions cancéreuses paraît controversée ou du moins secondaire.

Encouragé par les avancées techniques, très récemment le dépistage virologique en première intention est de tendance.

Par dépistage précoce, la combinaison du test HPV au frottis éviterait probablement un cancer du col utérin.

Les résultats obtenus pourraient constituer une base pour le renforcement de dépistage chez les femmes pour l'amélioration de la prévention du cancer du col de l'utérus.

Les HPV étant impliqués dans le développement de près de 100 % des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus, la présence d'un HPV à haut risque étant un élément déterminant dans l'évaluation du risque oncogène.

Le dépistage devrait être systématique et régulier touchant tout type de motif de consultation pour des lésions cervicales afin de constituer un point sentinelle

CONCLUSION

permettant de surveiller le mouvement de l'infection HPV et de prévenir l'évolution cancéreuse.

Le choix d'une bonne technique de biologie moléculaire est donc essentiel.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALAIN, S., HANTZ, S. & DENIS, F. (2010)** Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie* 13, 5-19.
- Aubin, F., Pretet, J.L. et Mougin, C.H. (2003)** Papillomavirus humains - Biologie et pathologie tumorale. Éditions EM inter, Éditions TEC & DOC.
- Baker, T., Newcomb, W., Olson, N., Cowser, L., Olson, C., and Brown, J.** Structures of bovine and human papillomaviruses. analysis by cryoelectron microscopy and threedimensional image reconstruction. *Biophys J* 60 (1991), 1445–56.
- Baseman, J.G. et Koutsky, L.A. (2005)** The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 32 Suppl 1:S16-24.
- Bernard, H., Burk, R., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., and de Villiers, E.** Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401 (2010), 70 9.
- Blanc, B. (2005)** Le dépistage du cancer du col de l'utérus. Springer P 107.
- BOSCH, F. X. & DE SANJOSE, S. (2003)** Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 3-13.
- Bousarghin, L., Touze, A., Gaud, G., Iochmann, S. et Coursaget, P. (2009)** Inhibition of cervical cancer cell growth by human papillomavirus virus-like particles packaged with human papillomavirus oncoprotein short hairpin RNAs. *Ther* 8:357 -65.
- Buck, C., Cheng, N., Thompson, C., Lowy, D., Steven, A., Schiller, J., and Trus, B.** Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J Virol* 82 (2008), 190–7.
- CHOW LT, BROKER TR.** Papillomavirus DNA replication. *Intervirology* 1994 ; 37 : 150-8.
- Clarke, M., Wentzensen, N., Mirabello, L., Ghosh, A., Wacholder, S., Harari, A., Lorincz, A., Schiffman, M., and Burk, R.** Human Papillomavirus DNA Methylation as a Potential Biomarker for Cervical Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 21 (2012), 2125–37.
- De Villiers, E.M., Fauquet, C., Broker, T.R., Bernard, H.U. et zur Hausen, H. (2004)** Classification of papillomaviruses. Minireview. *Virology* 324:17–27.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Diouri, M.K. (2008)** Dépistage du cancer du col utérin aux préfectures de rabat et skhirat temara : état des lieux et perspectives. Mémoire présente pour l'obtention du diplôme de maitrise en administration sanitaire et santé biblique institut national d'administration sanitaire, Maroc. P 19.
- Duport, N. (2008)** Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. Etat des connaissances. Institut de Veille Sanitaire. Paris. IARC .P 5.
- DÜRST M, KLEINHEINZ A, HOLZ M, GISSMAN L.** The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumors. J Gen Virol 1985 ; 66 : 1515-22.
- Edith, A. et Sylvie, V. (2003)** L'infection au virus de papillome humain : recension des écrits et consultation d'experts dans une perspective de santé publique. Institue nationale de santé publique de Québec. ISBN 2-550-41003-3. P 22-159.
- Ewen, M.** The cell cycle and the retinoblastoma protein family. Cancer Metastasis Rev 13 (1994), 45–66.
- FUCHS PG, PFISTER H.** Transcription of papillomavirus genomes. Intervirology 1994 ; 37 : 159-67.
- Globocan (2008)** Estimated cancer Incidence, Mortality, Prevalence and Disabilityadjusted life years (DALYs) Worldwide in 2008. <http://globocan.iarc.fr/>.
- Hantz, S., Alain, S. et Denis, F. (2006)** Human papillomavirus prophylactic vaccines: stakes and perspectives. 55.
- Hoffmann, I.** Protein Kinases Involved in Mitotic Spindle Checkpoint Regulation. In Cell Cycle Regulation (Kaldis P Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006.
- Howley, P.M. & Lowy, D.R. (2001)** Papillomaviruses and their replication. In: Knipe, D.N. & Howley, P.M., eds, Field's Virology, Philadelphia, PA, Lippincott, Williams & Wilkins, pp.2197–2229
- Humphrey, T., and Pearce, A.** Cell Cycle Molecules and Mechanisms of the Budding and Fission Yeasts. In Humphrey, T. and Brooks, G eds "Cell cycle control : Mechanisms and protocols", vol. 296. Humana Press Inc., Totowa, NJ, 2005.
- Indian J Med Res, ZUR HAUSEN, H. (2009)** Human papillomavirus &

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

cervical cancer. 130, 209.

Mitsuishi, T., Ohsawa, I., Kato, T., Egawa, N., and Kiyono, T. Molecular Cloning and Characterisation of a Novel Type of Human Papillomavirus 160 Isolated from a Flat Wart of an Immunocompetent Patient. *PLOS One* 8 (2013), e79592.

MONSENEGO, J. (1988) Dysplasies du col utérin et Papillomavirus humains, Paris, Maloine. **Indian J Med Res, ZUR HAUSEN, H. (2009)** Human papillomavirus & cervical cancer 130, 209.

Monsonogo J. Prévention du cancer du col utérin : enjeux et perspectives de la vaccination antipapillomavirus (Cervical cancer prevention : the impact of HPV vaccination) . Elsevier. Paris . 2006 Jan 20, vol 34 ,n°3,pp. 189-201

Monsonogo, J. (2006) Infections à papillomavirus. État des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Éditions Springer, Paris. P 195.

Monsonogo, J. (2007) prévention traité des infections et pathologies génitale à papillomavirus, springer, paris, France.

Neto, C., and Vinson, J. Cranberry. In *Herbal Medicine : Biomolecular and Clinical Aspects* (Benzie, IFF and Wachtel-Galor, S Eds). CRC Press, 2nd edition., 2011.

OMS. (2007) la lutte contre le cancer du col de l'utérus Guide des pratiques essentielles. Organisation mondiale de santé. Suisse, Genève. P 149-284.

Pereira, R., Hitzeroth, I., and Rybicki, E. Insights into the role and function of L2, the minor capsid protein of papillomaviruses. *Arch Virol* 154 (2009), 187–97.

Robinson, P. (2005) Cancer du col de l'utérus: Adressage tumoral et définition de ligands peptidiques de l'oncoprotéine E6 de HPV16. Thèse de Doctorat, L'Université Louis Pasteur de Strasbourg. France. Paris. P 12 ; 17-172.

Rohrmann, G. Baculovirus infection : The cell cycle and apoptosis (Chapter 7), in *Baculovirus Molecular Biology*. National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda, 2013.

Rolling, A.-C. (2014) Schéma descriptif de l'utérus.

<http://www.illustrationsmedicales.com/cancer-de-luterus/> (consulter le : 25 /04/ 2014).

Rouquille, N. (2009) Papillomavirus et cancers associés : données actualisées

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

sur le dépistage, les recommandations et la prophylaxie vaccinale. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Joseph Fourier. Faculté de Pharmacie de Grenoble. P 63. <http://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00592347>. (Consulter le : 11 /04/ 2014).

Sanjosé S , Herrero R, castellsagué X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003 Feb 6 ; 348(6) : 518-27.

Segondy, M. (2008) Classification des papillomavirus (HPV). *Revue francophone des laboratoires.* - N°405.P. 24.

Segondy, M. (2013) Agents infectieux et cancers. *Revue francophone des laboratoires Papillomavirus et cancer* - N°456.

Sellors, J.W. et Sankaranarayanan, R. (2004) Colposcopie et Traitement des néoplasies Cervicales Intraépithéliales : Manuel à l'usage des débutants. Lyon, France, IARC Press.

Van der Graaf, Y., Molijn, A., Doornewaard, H., Quint, W., van Doorn, L.J. et van den Tweel, J. (2002) Human Papillomavirus and the Long-term Risk of Cervical Neoplasia. *Am J Epidemiol* 156 (2) : 158-164.

WENTZENSEN N, RIDDER R, KLAES R, WOERNER S, VON KNEBEL DOEBERITZ M. Characterization of integration sites of human papillomavirus DNA in dysplastic and neoplastic cervical lesions. In: Charleston: 17th International Papillomavirus Conference, 1999: 189.

ANAES. Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal.

Bosch, F et de Sanjosé, S. Human papillomavirus and cervical cancer—burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 31 (2003), 3–13.

Dalstein, V., Riethmuller, D., Prétet, J., Le Bail Carval, K., Sautière, J., Carbillet, JPand Kantelip, B., Schaal, J., and C, M. Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions : a longitudinal french cohort study. *Int J Cancer* 106 (2003), 396–403.

De Villiers E.M., Fauquet C., Broker T., Bernard H.U., zur Hausen H., Classification of papillomaviruses, *Virology* 324 (2004) 17-27.

Denny, L., Franceschi, S., de Sanjosé, S., Heard, I., Moscicki, A., and Palefsky, J. Human papillomavirus, human immunodeficiency virus and

immunosuppression. *Vaccine* 30 (2012), 168–174.

DOUVIER S. DALAC. Infections à papillomavirus. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 8- 054-A-10 (2004).

Dr J. Monsonogo © 2013 , Comprendre l'infection génitale à papillomavirus

Dr Joseph Monsonogo Editeur : GRASSET, 07/03/2007, ISBN : 978-2-246-71131-5

Drolet, M., Boily, M., Greenaway, C., Deeks, S., Blanchette, C., Laprise, J., and Brisson, M. Sociodemographic inequalities in sexual activity and cervical cancer screening : implications for the success of human papillomavirus vaccination. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 22 (2013), 641–52.

Garcia-Closas, R., Castellsagué, X., Bosch, X., and Gonzalez, C. A. The role of diet and nutrition in cervical carcinogenesis : A review of recent evidence. *Int J Cancer* 117 (2005), 629–37.

GEORGOPOULOS NT, PROFFITT JL, BLAIR JE. Transcriptional regulation of the major histocompatibility complex (MHC) class I heavy chain, TAP1 and LMP2 genes by the human papillomavirus (HPV) type 6b, 16 and 18 E7 oncoproteins. *Oncogene* 2000 ; 19 (42) : 4930-5.

Gilles Spoden, a Lena Kühling, b Nicole Cordes, b Bettina Frenzel, a Martin Sapp, c Klaus Boller, d Luise Florin, a Mario Schelhaasb, Human Papillomavirus Types 16, 18, and 31 Share Similar Endocytic Requirements for Entry 2013

Hinkula, M., Pukkala, E., Kyyrönen, P andLaukkanen, P., Koskela, P., Paavonen, J., Lehtinen, M., and Kauppila, A. A population-based study on the risk of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia among grand multiparous women in Finland. *Br J Cancer* 90 (2004), 1025–9.

Hjartåker, A., Meo, M., and Weiderpass, E. Alcohol and gynecological cancers : an overview. *Eur J Cancer Prev* 19 (2010), 1–10.

Howley PM, Lowy D. Papillomaviruses. *Fields Virology*. Harvard : Lippincott, 2007.

Hu L, Guo M, He Z, Thornton J, McDaniel LS, Hughson MD. Human papillomavirus genotyping and p16INK4a expression in cervical intraepithelial neoplasia of adolescents. *Mod Pathol* 2005;18:267-73.

Katki, H., Kinney, W., Fetterman, B., Lorey, T., Poitras, N., Cheung, L.,

Demuth, F., Schiffman, M., Wacholder, S., and Castle, P. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology : a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol* 12 (2011), 663–72.

Kelly D, Kincaid E, Fansler Z, Rosenthal DL, Clark DP. Detection of cervical high-grade squamous intraepithelial lesions from cytologic samples using a novel immunocytochemical assay (ProEx C). *Cancer* 2006; 108(6):494–500

Kurman, R.J., Carcangiu, M.L., Herrington, C.S., Young, R.H. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs IARC WHO Classification of Tumours, No 6; 2014.

Luhna, P., Walker, J., Schiffman, M., Zuna, R., Dunne, S., Gold, M., Smith, K., Mathews, C., Allen, R., Zhang, R., and Wang, S and Wentzensen, N. The role of co-factors in the progression from human papillomavirus infection to cervical cancer. *Gynecol Oncol* 128 (2013), 265–70.

Melkert PW, Hopman E, van den Brule AJ et al. (1993) Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the polymerase chain reaction, is age-dependant. *Int J Cancer* I; 53(6): 919-23

Mergui, J., Polena, V., David-Montefiore, E., and Uzan, S. Recommandations pour la surveillance des patientes traitées pour des lésions de haut grade du col utérin. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 37 (2008), S121–30.

Monsonogo J. HPV and cofactors in cervical carcinogenesis. In: *Papillomaviruses in human pathology*, New York: ed. Raven Press, 1990: 31-48.

Monsonogo J. Prévention du cancer du col utérin : enjeux et perspectives de la vaccination antipapillomavirus (Cervical cancer prevention : the impact of HPV vaccination) . Elsevier. Paris . 2006 Jan 20, vol 34 ,n°3, pp. 189-201

Münger, K., Baldwin, A., Edwards, K., Hayakawa, H., Nguyen, C., Owens, M., Grace, M., and Huh, K. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J Virol* 78 (2004), 11451–60.

Nelly Rouquille. Papillomavirus et cancers associés : données actualisées sur

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

le dépistage, les recommandations et la prophylaxie vaccinale. Sciences pharmaceutiques. 2009.

Neto, C., and Vinson, J. Cranberry. *In Herbal Medicine : Biomolecular and Clinical Aspects (Benzie, IFF and Wachtel-Galor, S Eds).* CRC Press, 2nd edition., 2011.

O'CONNOR M, CHAN S, BERNARD HU. Transcription factor binding sites in the long control region of genital HPVs. In: Myers G, Bernard HU, Delius H, Baker K, Icenogle J, Halpern A, et al eds. *Human papilloma viruses* 1995.

Pr Christian Chidiac UCBL1 UFR Lyon sud-Charles Mérieux CIRI INSERM U1111, Infection à Human Papillomavirus (HPV) 2016.

Sasagawa, T., Shimakage, M., Nakamura, M., Sakaike, J., Ishikawa, H., and Aki Inoue, M. Epstein-Barr Virus (EBV) Genes Expression in Cervical Intraepithelial Neoplasia and Invasive Cervical Cancer : A Comparative Study With Human Papillomavirus (HPV) Infection. *Hum Pathol* 31 (2000), 318–26.

Schneider V. CIN prognostication: will molecular techniques do the trick? *Acta Cytol* 2003;47:115-6.

Sellers, J., Mahony, J., Kaczorowski, J., Lytwyn, A., Bangura, H., and Chong, S. Prevalence and predictors of human papilloma virus infection in women in Ontario, Canada. *CMAJ* 163 (2000), 503–8.

SHERR CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994 ; 79 : 551-5.

Sophie Alain, Sébastien Hantz, François Denis 2010 Service de bactériologie-virologie-hygiène, Hôpital Dupuytren, CHU de Limoges, 2 avenue Martin Luther-King, 87042 Limoges

Tech. rep., Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé, France, 2002.

VELDMAN T, HORIKAWA I, BARRETT JC, SCHLEGEL R. Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by *human Papillomavirus* type 16 E6 oncoprotein. *Journal of virology* 2001 ; 75(9) : 4467-72.

Weinberger PM, Yu Z, Haffty BG et al. *Molecular classification identifies a subset of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancers with favorable prognosis. J Clin Oncol* 2006;24:736.µ

WHITE E. Life, death and the pursuit of apoptosis. *Genes Dev* 1996 ; 10 :

461-77.

Zeng, X., Xiong, P., Wang, F., Li, C., Yao, J., and Guo, Y. Passive Smoking and Cervical Cancer Risk : A Meta-analysis Based on 3,230 Cases and 2,982 Controls. *Asian Pac J Cancer Prev* 13 (2012), 2687–94.

zur Hausen H. (2002) *Nature Reviews Cancer* 2, 342-350 .doi: 10.1038/nrc798. <http://screening.iarc.fr/doc/HANDBOOK10.pdf> (consulté le : 03/06/2014).

Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005 ; 32 (Suppl 1) : S7-15.

Einstein MH, Schiller JT, Viscidi RP, Strickler HD, Coursaget P, Tan T, et al. Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis* 2009 ; 9 : 347-56.

Lazarczyk M, Cassonnet P, Pons C, Jacob Y, Favre M. The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. *Microbiol Mol Biol Rev* 2009 ; 73 : 348-70.

Palefsky J. Human papillomavirus-related disease in people with HIV. *Curr Opin HIV AIDS* 2009 ; 4 : 52-6.

Sophie Alain, Sébastien Hantz, François Denis 2010 Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection, 87042 Limoges

Winters U, Daayana S, Lear JT, et al. Clinical and immunologic results of a phase II trial of sequential imiquimod and photodynamic therapy for vulval intraepithelial neoplasia. *Clin Cancer Res* 2008 ; 14 : 5292-9.

Yugawa T, Kiyono T. Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. *Rev Med Virol* 2009 ; 19 : 97-113.

ANNEXES

Annexe 01 : Mode prélèvement

-Effectuer un échantillonnage adéquat sur le col de l'utérus avec la brosse fournie avec le dispositif de prélèvement.

-Introduire les poils du milieu de la brosse dans le canal endocervical assez profondément pour que les poils les plus courts soient entièrement en contact avec l'exocol.

-Pousser avec précaution et faire tourner la brosse cinq fois (05) dans le sens des aiguilles d'une montre.

-Rincer la brosse dans le flacon de solution **PreservCyt** en poussant la brosse 10 fois au fond du flacon, en forçant les poils à se séparer.

-Tourner vigoureusement la brosse pour libérer ce qui reste de la substance.

Les prélèvements se fait grâce à une cytobrosse, conservé par la suite dans une solution de fixation contenant de méthanol.



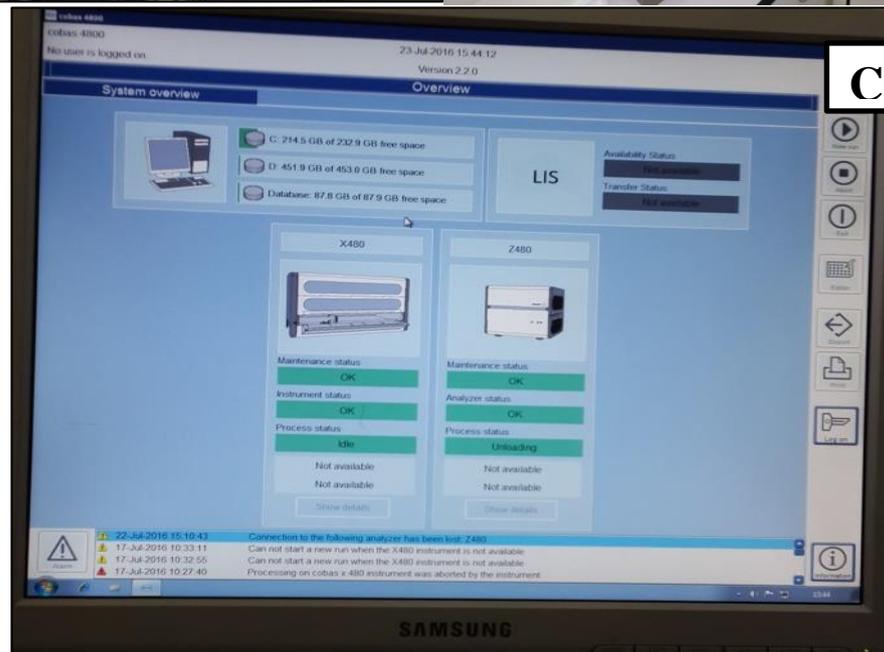
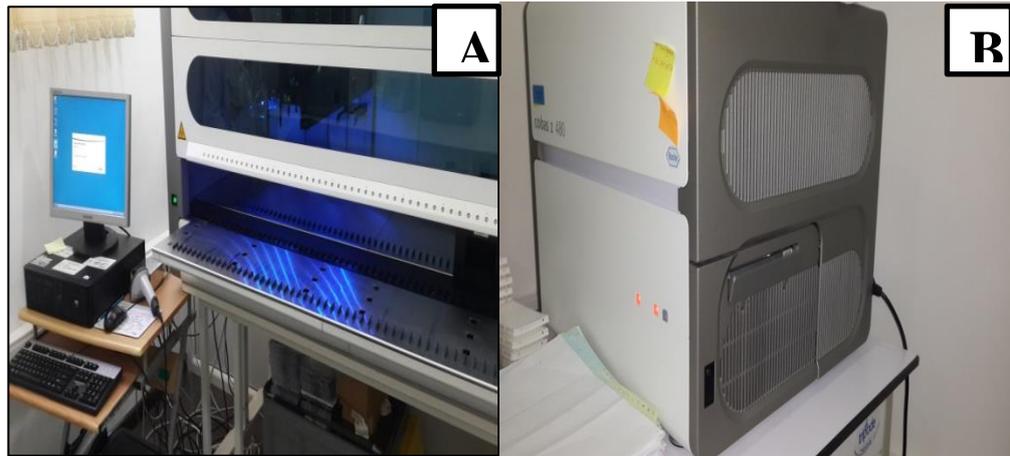
ANNEXES

Annexe 03 : Appareils et logiciel

-Instrument cobas x 480 : (A) il permet l'extraction de l'ADN

-Analyseur cobas z 480 : (B) il permet l'amplification

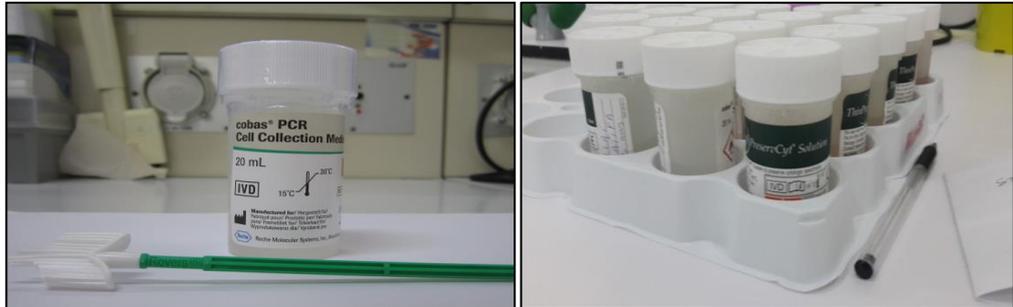
- Logiciel du système version 2.1 (C) pour la lecture et l'interprétation des résultats.



ANNEXES

Annexe 04

Nous avons utilisé uniquement des échantillons cervicaux prélevés en milieu de prélèvement cobas® PCR Cell Collection Media à base d'éthanol et la solution PreservCyt (PC) une solution tamponnée à base de méthanol.



Annexes 05

- Master Mix (HPV MMX)
- HPV Mg/Mn
- HPV (+) C (Contrôle positif au HPV)
- Tampon Tris-HCl EDTA
- HPV(-) C (Contrôle négatifs au HPV)



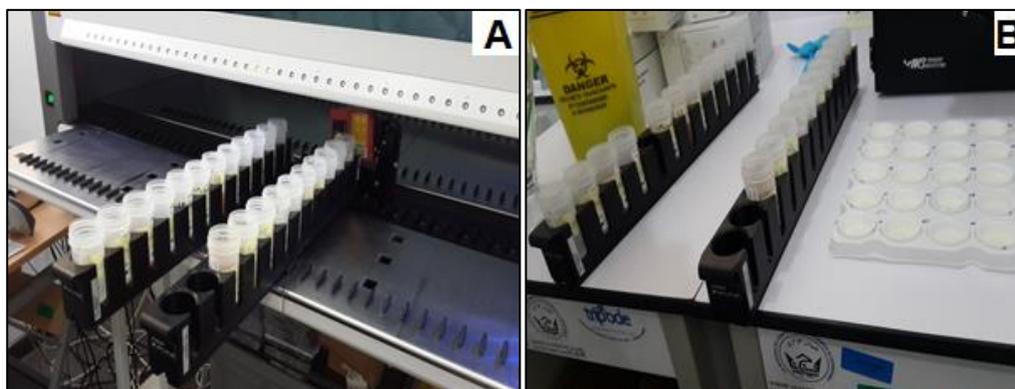
ANNEXES

-Les réactifs (EB, LYS, SDS, MGP et WB)



Annexe 06 :

A : Les prélèvements cervicaux mis dans le Cobas 480X pour l'extraction, **B** : Prélèvements préparé pour la PCR en temps réel Test HPV dans le Cobas 4800 Roche.



ANNEXES

Annexe 07 : Liste des structures privées et des structures de santé publique

Expéditeur	Nombre de Prélèvements	Pourcentage%
EPH Belfort Hassen badi	2	0,39%
Beni Messous (Hassen Issad)	16	3,11%
EPH Bologhine	3	0,58%
CHU Beb El-Oued	5	0,97%
CHU Blida Frantz Fanon	3	0,58%
CHU Hussein-Day Naffissa Hamoud (Parnet)	8	1,55%
CHU Douera	15	2,91%
CHU Mustapha	7	1,36%
EPH Meftah Blida	7	1,36%
EPH Kouba	13	2,52%
EPH Zeralda/ Staoueli/ EPSP Zeralda	5	0,97%
HCA	1	0,19%
EPSP/ EPH /CPF Ain taya	5	0,97%
EPSP Sidi M'hamed Bouchenafa	1	0,19%
EPSP Baraki	2	0,39%
EPH Kolea	1	0,19%
EPH Medea	1	0,19%
EPSP Draria	23	4,47%
Externe	397	77,09%
Somme	515	100%