



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA I
FACULTE DE MEDECINE
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Thèse de Doctorat en Sciences Médicales

Prévalence et distribution des génotypes de Papillomavirus Humain à haut risque de cancer du col utérin chez les femmes dans la région de Blida

Soutenue par
Dr Samira OUKID
Maitre assistante en Microbiologie
CHU Blida

Devant le jury composé de :

Pr Mohamed ADJALI
Pr Rabah BOUHAMED
Pr Boumediene BELARBI
Pr Rachid BELOUNI

Faculté de médecine d'Alger
Faculté de médecine de Blida
Faculté de médecine de Tlemcen
Faculté de médecine de Blida

Président
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

Blida 2019

Thèse de Doctorat en Sciences Médicales
Prévalence et distribution des géotypes de Papillomavirus
Humain à haut risque de cancer du col utérin chez les femmes
dans la région de Blida

Soutenue par
Dr Samira OUKID
Maitre assistante en Microbiologie
CHU Blida

REMERCIEMENTS

A mon directeur de thèse et Maître, Pr Rachid Belouni, pour avoir accepté de diriger ce travail. Nous souhaitons toujours avoir le privilège d'apprendre à vos côtés.

A Monsieur le Professeur Mohamed Adjali, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse et à qui nous exprimons notre profond respect.

A messieurs les Professeurs Rabah Bouhamed et Boumediene Belarbi qui ont accepté de juger ce travail. Veuillez croire en notre respect infini.

Je tiens également à remercier,

Le directeur de l'EPSP Ouled Yaiche ainsi que toute son équipe médicale et en particulier les sages-femmes qui ont participé activement à l'aboutissement de ce projet.

Les médecins, gynécologues et sages-femmes du service de gynécologie-obstétrique du CHU de Blida, en particulier, Dr DJERABA, Dr CHAOUIA, Pr Bakhti et Mme SAOUDI.

Et enfin, ce projet n'aurait pas vu le jour sans la collaboration avec l'institut Pasteur d'Algérie. Pr MOHAMMEDI, je n'oublierai jamais que vous m'avez tendu la main. Ce travail est réalisé grâce à vous et votre équipe : Nabila, Fatma, Nora et Anissa. Je ne vous remercierai jamais assez.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mes parents ;

Mes frères et ma belle sœur ;

Ma famille ;

Mes amis ;

Mes collègues.

« Trouvez les personnes qui illumineront votre chemin.
Ignorez ceux qui vous rendent effrayés et tristes, qui vous entraînent vers la maladie et la
mort. Mettez votre vie en feu. Cherchez ceux qui attiseront les flammes. »

Rûmî

LISTE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	8
LISTE DES FIGURES	:
LISTE DES TABLEAUX.....	11
INTRODUCTION.....	14
I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	19
I.1 LES PAPILLOMAVIRUS.....	19
I.1.1 Structure virale.....	19
I.1.2 Classification des Papillomavirus	24
I.1.2.1 Selon la séquence génomique	25
I.1.2.2 Selon le tropisme tissulaire	26
I.1.2.3 Selon le potentiel oncogène	27
I.1.3 Cycle viral.....	29
I.1.4 Transmission des Papillomavirus	31
I.1.5 Oncogenèse des Papillomavirus	33
I.1.5.1 L'intégration de l'ADN viral	34
I.1.5.2 Rôle des oncoprotéines E6 et E7	34
I.1.6 Infections à HPV et lésions associées	36
I.1.6.1 Lésions cutanées	37
I.1.6.2 Lésions des muqueuses anogénitales	38
I.1.6.2.1 Condylomes anogénitaux.....	38
I.1.6.2.2 Les lésions intraépithéliales	38
I.1.6.3 Lésions des muqueuses extragénitales	38
I.1.6.4 Cancers causés par les HPV à tropisme muqueux.....	39
I.1.7 Réponse immunitaire anti-Papillomavirus	40
I.1.7.1 Réponse humorale.....	41
I.1.7.2 Réponse cellulaire.....	42
I.1.7.3 Mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire	43
I.2 LE CANCER DU COL DE L'UTERUS	45
I.2.1 Le col de l'utérus	45
I.2.1.1 Anatomie	45
I.2.1.2 Physiologie	46
I.2.2 Histoire naturelle du cancer du col	46
I.2.3 Rappel des différentes classifications histologiques des lésions précancéreuses...	47

I.2.3.1 Classification de Papanicolaou	47
I.2.3.2 Classification de l’OMS	48
I.2.3.3 Classification de Ralph-Richart	48
I.2.3.4 Système de Bethesda.....	49
I.2.4 Classifications des tumeurs	50
I.2.4.1 Classification F.I.G.O	50
I.2.4.2 Classification TNM de l’Union Internationale Contre le Cancer (UICC).....	51
I.2.5 Epidémiologie des cancers du col de l’utérus.....	51
I.2.6 Facteurs de risque d’acquisition	52
I.2.6.1 Age	53
I.2.6.2 Tabagisme	53
I.2.6.3 Contraception orale	53
I.2.6.4 Multiparité	53
I.2.6.5 Statut immunitaire	54
I.2.6.6 Coinfection à d’autres maladies sexuellement transmissibles	54
I.2.7 Dépistage et diagnostic du cancer du col de l’utérus	54
I.2.7.1 Les symptômes.....	55
I.2.7.2 Le trépied frottis-colposcopie-biopsie	56
I.2.7.2.1 Cytologie ou étude du frottis cervico-utérin.....	56
I.2.7.2.2 Colposcopie	56
I.2.7.2.3 Histologie	56
I.3 RECHERCHE DU PAPILLOMAVIRUS HUMAIN AU LABORATOIRE DE VIROLOGIE.....	56
I.3.1 Prélèvements	56
I.3.2 Microscopie électronique	57
I.3.3 Biologie moléculaire	57
I.3.3.1 Détection des HPV sans spécifier les types	59
I.3.3.1.1 Hybridation en phase liquide.....	59
I.3.3.1.2 Amplification par PCR couplée à une détection immunoenzymatique des amplicons.....	60
I.3.3.2 Génotypage des HR-HPV.....	60
I.3.3.2.1 Génotypage par séquençage.....	61
I.3.3.2.2 Génotypage par sondes immobilisées sur bandelettes.....	61
I.3.3.2.3 Génotypage par puce à ADN.....	62
I.3.3.2.4 Génotypage par la technologie Luminex®	62

I.3.3.3 Détection quantitative du génome HPV.....	63
I.3.3.4 Détection des ARNm HPV.....	63
I.3.4 Sérologie	63
I.4 PLACE DU TEST HPV DANS LE DEPISTAGE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS	64
I.4.1 Indication du Test HPV	64
I.4.1.1 Test HPV en dépistage primaire	65
I.4.1.1.1 Dépistage primaire combiné	65
I.4.1.1.2 Test HPV puis triage par frottis	66
I.4.1.2 Suivi post-thérapeutique CIN2 ou 3	67
I.4.2 Intérêts et limites des tests HPV.....	68
I.4.3 Critères de choix du test HPV	70
I.4.4 Interprétation des tests HPV	71
I.5 VACCINATION ANTI-PAPILLOMAVIRUS	72
I.5.1 Approche vaccinale	72
I.5.2 Principe général de la vaccination	72
I.5.3 Vaccins disponibles	73
I.5.4 Recommandations vaccinales	73
I.5.5 Efficacité de la vaccination contre HPV	75
I.5.6 Rapport coût/bénéfice de la vaccination anti-HPV	76
I.5.7 Acceptabilité du vaccin anti-Papillomavirus	77
II. OBJECTIFS	80
III. PATIENTES ET METHODES	82
III.1 Lieu de l'étude	82
III.2 Type d'étude	83
III.3 Calcul de la Taille de l'échantillon.....	84
III.4 Durée de l'étude	85
III.5 Patientes cibles	85
III.5.1 Critères d'inclusion.....	85
III.5.2 Critères d'exclusion.....	85
III.6 Protocole de travail	85
III.6.1 Le prélèvement cervico-utérin pour Test-HPV	87
III.6.2 Transport et conservation des échantillons	88
III.6.3 Analyse moléculaire et la recherche des HPV à haut risque.....	89
III.6.3.1 Techniques utilisées	89

III.6.3.2 Principe de la procédure du test Cobas 4800	89
III.6.3.3 Principe de la Procédure du test LINEAR ARRAY [®] HPV Genotyping	97
III.7 Analyse statistique	105
III.8 Recherche bibliographique	105
IV. RESULTATS	107
IV.1 Description de la population	108
IV.1.1 Description démographique	108
IV.1.1.1 Répartition des patientes selon la commune de résidence.....	108
IV.1.1.2 Répartition des patientes selon la profession.....	111
IV.1.2 Description de l'échantillon	112
IV.1.2.1 Répartition des patientes selon l'âge.....	112
IV.1.2.2 Répartition des patientes selon l'anomalie cytologique.....	113
IV.1.2.3 Répartition des patientes selon les différents facteurs de risque d'acquisition des HPV à haut risque oncogène	115
IV.1.2.3.1 Age du premier rapport sexuel	115
IV.1.2.3.2 Durée de l'activité sexuelle.....	115
IV.1.2.3.3 Nombre de Partenaires sexuels	117
IV.1.2.3.4 Nombre de gestation	118
IV.1.2.3.5 Voie d'accouchement	119
IV.1.2.3.6 Utilisation de moyens de Contraception	119
IV.1.2.3.7 Ménopause	121
IV.1.2.3.8 Notion de pratique de la Piscine	122
IV.1.2.3.9 Notion de l'utilisation du hammam ou bain	123
IV.1.2.3.10 Tabagisme	124
IV.1.2.3.11 Utilisation de l'échographie endovaginale	125
IV.1.2.3.12 Antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus	126
IV.2 Prévalence des HPV à haut risque oncogène de cancer du col de l'utérus	127
IV.3 Distribution des HPV à haut risque selon l'âge	128
IV.4 Distribution des HPV à haut risque selon l'anomalie cytologique	129
IV.5 Distribution des HPV à haut risque selon les facteurs de risque	133
IV.5.1 Age du premier rapport sexuel.....	133
IV.5.2 Durée de l'activité sexuelle	134
IV.5.3 Nombre de partenaires sexuels.....	134
IV.5.4 Nombre de gestation.....	136

IV.5.5 Voie d'accouchement	137
IV.5.6 L'utilisation de moyens de Contraception.....	138
IV.5.6.1 Utilisation de Contraception orale.....	139
IV.5.6.2 Utilisation du dispositif intra-utérin	140
IV.5.6.3 Durée de la contraception.....	141
IV.5.7 Ménopause	141
IV.5.8 Notion de la pratique de la Piscine.....	143
IV.5.9 Notion de l'utilisation du Bain ou Hammam.....	144
IV.5.10 Tabagisme.....	145
IV.5.11 Utilisation de l'échographie endovaginale.....	146
IV.5.12 Antécédents familiaux du cancer du col.....	147
IV.6 Devenir des patientes après dépistage par le Test HPV.....	149
V. DISCUSSION.....	151
VI. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES	166
VII. CONCLUSION.....	168
VIII. BIBLIOGRAPHIE	172
IX. ANNEXES	194

LISTE DES ABREVIATIONS

ACIP: Advisory Committee on Immunization Practices
ADN: Acide DésoxyriboNucléique
AGC: Atypical glandular cells
AFSSAPS: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
AIS: Adénocarcinome in situ
AMM: Autorisation de Mise sur le Marché
ANAES: Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé
APRS: Age du premier rapport sexuel
ARN: Acide RiboNucleique
ARNm: Acide RiboNucléique messenger
ASC: Atypical Squamous Cells
ASC-H: Atypical Squamous Cells cannot exclude High grade Squamous Intraepithelial Lesion
ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance
BVP: Bovine Papillomavirus
CCR: C-Chemokine receptor
CD: Cluster de différenciation
CDC: Centre of disease control
CIN: Cervical Intraepithelial Neoplasia ; néoplasie intra-épithéliale cervicale
CIRC: Centre international de Recherche sur le Cancer
CIS: Carcinome in situ
CNGOF : Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français
CNR: Centre National de Recherche
CRPV: Cottontail Rabbit Papillomavirus
DIU: Dispositif Intra-Utérin
dNTP: désoxy N triphosphate
dUTP: désoxyUridine triphosphate
EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor
ESCMID: European society of clinical microbiology and infection disease
EM: European medical
FCU: Frottis cervico-utérin
FDA: Food and Drug Administration
FIGO: Fédération Internationale des Gynécologues et Obstétriciens des carcinomes du col utérin
GAVI: Global Alliance for Vaccines and Immunization
GSK: laboratoire GlaxoSmithKline
HAS: Haute Autorité de Santé
HCSP: Haut Conseil de la Santé Publique
HLA: Human Leukocyte Antigen
HPV: Human Papilloma Virus
HPV-BR: Papillomavirus humain-Bas risque
HPV-HR: Papillomavirus humain-Haut risque

HSIL: High grade Squamous Intraepithelial Lesion
IARC: International Agency for Research on Cancer
IC: Intervalle de confiance
IL: InterLeukine
INCa: Institut National du Cancer
INF: InterFeron
INVS: Institut de Veille Sanitaire
IST: Infection Sexuellement Transmissible
IPA: Institut Pasteur d'Algérie
JPC: Jonction pavimento-cylindrique
LSIL: Low grade Squamous Intraepithelial Lesion
LCR: Long Control Region
MET: Microscope électronique
MIP: Macrophage Inflammatory Protein
NASBA: Nucleic Acid Sequence Based Amplification
OR: Odd Ratio
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
PAHO: Pan American Health Organisation
Pb: Paire de base
PBMC: Peripheral Blood mononucleous cells
PCR: Polymerase Chain Reaction
pRb: Retinoblastoma protein
PVD: Pays en Voie de Développement
SIDA: Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquis
TNF: Tumor Necrosis Factor
USA: Unite State of America
UK: Union Kingdom
UICC: l'Union Internationale Contre le Cancer
URR: Upstream Regulatory Region
VADS: Voies aérodigestives supérieures
VaIN: Vaginal Intraepithelial Neoplasia
VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine
VIN: Vulvar Intraepithelial Neoplasia
VLP: Viral Like Particle

LISTES DES FIGURES

Figure 1. Particules virales de différents types d'HPV observées au microscope électronique (MET).....	19
Figure 2. Organisation de la capsid e d'un virion HPV-16 avec une vue montrant la protéine L2 (rouge) de la capsid e associée à la surface intérieure de la protéine L1 (bleu).....	20
Figure 3. Représentation schématique du génome circulaire d'HPV-16 montrant la localisation des gènes Précoces (E : early) et tardifs (late : L1 et L2) et celle de la région LCR (long control région).....	22
Figure 4. Les étapes du cycle de multiplication de HPV au niveau de la couche basale de l'épithélium malpighien.....	30
Figure 5. Coupe anatomopathologique contenant les cellules pathognomiques de l'infection à HPV : les koilocytes.....	31
Figure 6. Cycle viral et évolution vers une prolifération maligne au cours d'une infection par un HPV muqueux génital.....	33
Figure 7. Coopération des protéines E6, E7 et E5 des HPV-HR dans la persistance virale et l'oncogénèse virale.....	35
Figure 8. Devenir des HPV après pénétration dans les cellules basales de l'épithélium du col de l'utérus.....	37
Figure 9. Illustrations des différentes lésions liées à l'infection à HPV	39
Figure 10. Physiopathologie de l'infection et réponse immunitaire naturelle au cours de l'infection par un HPV.....	44
Figure 11. Schéma de l'anatomie de l'utérus en vue frontale et endovaginale.....	45
Figure 12. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus.....	47
Figure 13. Relation entre le cycle viral et la classification des lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus.....	49
Figure 14. Illustration schématique de quelques stades de la classification FIGO pour les lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus en vue endovaginale et frontale.....	51
Figure 15. Principe de l'hybridation en phase liquide.....	59
Figure 16. Les étapes de la PCR.....	60
Figure 17. Génotype par reverse dot-blot.....	62
Figure 18. Proposition d'algorithme pour un test HPV de première intention en dépistage primaire, suivi d'un frottis de seconde intention chez les femmes HPV positives.....	67
Figure 19. Conduite à tenir après le traitement d'un CIN2+.....	68
Figure 20. La brosse Rovers® Cervex-Brush® et le milieu de transport Cobas®PCR Cell collection Media, matériels nécessaires pour le prélèvement cervico-utérin pour la recherche de HPV à haut risque.....	88
Figure 21. Préparation des échantillons cervicaux.....	88
Figure 22. Mise en place des échantillons dans le Cobas x 480 pour l'étape de l'extraction	93

d'ADN et la préparation automatisée des échantillons pour l'amplification PCR.....	
Figure 23. Mise en place du consommable et des réactifs dans le Cobas x 480.....	94
Figure 24. Amplification par PCR en temps réel grâce au Cobas Z 480.....	105
Figure 25. Préparation des échantillons pour l'amplification.....	101
Figure 26. Hybridation reverse grace au kit Linear Array genotyping Test.....	102
Figure 27. Révélation et interprétation des Génotype HPV-HR	103
Figure 28. Critères d'inclusion et d'exclusion des prélèvements cervicaux retenus pour l'étude.....	107
Figure 29. Répartition des patientes selon la Commune de résidence, N=444	108
Figure 30. Répartition des patientes de l'étude selon la cartographie de la Wilaya de Blida.....	110
Figure 31. Répartition des patientes selon leur profession, N=444	111
Figure 32. Age moyen des patientes de l'étude	112
Figure 33. Répartition des patientes selon l'âge, N=444	113
Figure 34. Répartition des patientes selon l'anomalie cytologique, N=444.....	114
Figure 35. Age moyen du premier rapport sexuel	115
Figure 36. Répartition des patientes selon la durée de l'activité sexuelle, N=444	116
Figure 37. Répartition des patientes selon le nombre partenaires sexuels, N=444	117
Figure 38. Répartition des patientes selon le nombre de grossesse, N=444	118
Figure 39. Répartition de patientes selon la voie d'accouchement, N=427	119
Figure 40. Répartition des femmes selon l'utilisation de moyens de contraception, N=444.....	120
Figure 41. Répartition des patientes selon la ménopause, N=420.....	121
Figure 42. Répartition des patientes selon la notion de pratique de la Piscine, N=444	122
Figure 43. Répartition des patientes selon la notion de l'utilisation du hammam ou bain, N=444.....	123
Figure 44. Répartition des patientes selon le tabagisme, N=444.....	124
Figure 45. Répartition des patientes selon l'utilisation de l'échographie endovaginale, N=444.....	125
Figure 46. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus, N=444	126
Figure 47. Prévalence des HPV à haut risque chez les femmes de la région de Blida, N=444.....	127
Figure 48. Répartition des HPV à haut risque selon la Commune de résidence, N=444.....	128
Figure 49. Différence de la moyenne d'âge entre les patientes HPV positives et HPV négatives.....	129
Figure 50. Comparaison des âges du début de l'activité sexuelle des femmes HPV-HR positives et des femmes HPV-HR négatives.....	133
Figure 51. Comparaison de la durée de l'activité sexuelle des femmes HPV-HR positives et des femmes HPV-HR négatives.....	134

Figure 52. Distribution des HPV à haut risque selon le nombre de partenaires sexuels, N=444.....	135
Figure 53. Distribution des HPV à haut risque selon le nombre de gestation, N=444.....	136
Figure 54. Distribution des HPV à haut risque selon la voie d'accouchement, N=427.....	137
Figure 55. Distribution des HPV à haut risque selon la prise de contraception, N=444.....	138
Figure 56. Distribution des HPV à haut risque selon la prise de contraception orale, N=444.....	139
Figure 57. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation du DIU, N=74.....	140
Figure 58. Comparaison de la durée de contraception chez les femmes HPV-HR positive et les patientes HPV-HR négatives.....	141
Figure 59. Distribution des HPV à haut risque selon la ménopause, N=420	142
Figure 60. Distribution des HPV à haut risque selon la notion de pratique de Piscine, N=444.....	143
Figure 61. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation du bain ou hammam, N=444.....	144
Figure 62. Distribution des HPV à haut risque selon l'exposition au tabagisme, N=444....	145
Figure 63. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation de l'échographie endovaginale, N=444	146
Figure 64. Distribution des HPV à haut risque selon les antécédents familiaux de cancer du col, N=444	147
Figure 65. Algorithme du devenir des patientes de l'étude après dépistage par le Test HPV.....	149

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Protéines virales et leurs principales fonctions.....	23
Tableau 2. Classification des papillomavirus humains sur la base du gène codant la protéine majeure de capsid L1.....	26
Tableau 3. Distribution des types d'HPV selon leur tropisme	27
Tableau 4. Classification des HPV selon l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer.....	28
Tableau 5. Cancers attribuables aux HPV.....	40
Tableau 6. Caractéristiques des différents systèmes d'amorces à large spectre disponibles pour l'amplification par PCR des HPV.....	58
Tableau 7. Polycliniques et salles de Protection maternelle et infantile (PMI) de Blida attachées à l'Etablissement Public de Santé de Proximité (EPSP) d'Ouled Yaiche.....	83
Tableau 8. Formule de calcul de la taille d'échantillon pour prévalence dans notre étude.....	84
Tableau 9. Différentes trousse des réactifs utilisés pour Cobas 4800 Test.....	96
Tableau 10. Différentes trousse des réactifs utilisés pour LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test.....	104
Tableau 11. Répartition des patientes selon la Commune de résidence.....	109
Tableau 12. Répartition des patientes selon leur profession.....	111
Tableau 13. Répartition des patientes selon l'âge	113
Tableau 14. Répartition des patientes" selon cpqo crkg'e{ vqñ ks wg	114
Tableau 15. Répartition des patientes selon la durée de l'activité sexuelle...	116
Tableau 16. Répartition des patientes selon le nombre partenaires sexuels.....	117
Tableau 17. Répartition des patientes selon le nombre de grossesse.....	118
Tableau 18. Répartition de patientes selon la voie d'accouchement	119
Tableau 19. Répartition des femmes selon l'utilisation de moyens de contraception.....	120
Tableau 20. Répartition des patientes selon la ménopause.....	121
Tableau 21. Répartition des patientes selon la notion de pratique de la Piscine	122
Tableau 22. Répartition des patientes selon la notion de l'utilisation du hammam ou bain.....	123
Tableau 23. Répartition des patientes selon le tabagisme.....	124
Tableau 24. Répartition des patientes selon l'utilisation de l'échographie endovaginale.....	125
Tableau 25. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus	126
Tableau 26. Comparaison entre les patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'aspect cytologique.....	130

Tableau 27. Caractéristiques des patientes porteuses de HPV-HR.....	131
Tableau 28. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon le nombre de partenaires sexuels.....	135
Tableau 29. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon le nombre de gestation.....	136
Tableau 30. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la voie d'accouchement.....	137
Tableau 31. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la prise de contraception.....	138
Tableau 32. Comparaison des patientes HPV positives et patientes HPV négatives selon la prise de contraception orale.....	139
Tableau 33. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation du DIU	140
Tableau 34. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la ménopause	142
Tableau 35. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la notion de pratique de Piscine	143
Tableau 36. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation du bain ou hammam.....	144
Tableau 37. Comparaison des patientes HPV positives et patientes HPV négatives selon l'exposition au tabagisme.....	145
Tableau 38. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation de l'échographie endovaginale.....	146
Tableau 39. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon les antécédents familiaux de cancer du col	147
Tableau 40. Récapitulatif des facteurs de risque d'acquisition des HPV-HR chez les femmes dans la région de Blida.....	148
Tableau 41. Prévalence des HPV-HR et l'âge moyen des patientes dans la littérature et dans notre population d'étude.....	164

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le cancer du col de l'utérus (CCU) occupe la quatrième place parmi les cinq principaux cancers affectant la femme dans le monde [1]. Selon GLOBOCCAN 2018, plus de 569 847 nouveaux cas de CCU ont été enregistrés avec 311 365 décès liés à ce cancer. Les principaux taux de mortalité sont enregistrés aux pays en voie de développement; A l'opposé, les taux d'incidence et de mortalité les plus faibles sont notifiés en Europe et en Amérique du Nord [2,3].

Il existe plusieurs études épidémiologiques qui ont identifié des facteurs de risque pour le développement du CCU. Ces facteurs qui augmentent la fréquence de la maladie sont : Les comportements sexuels à risque (l'âge jeune au premier rapport sexuel, le nombre élevé de partenaires sexuels au cours de la vie, la non circoncision du partenaire et la non utilisation du préservatif), l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux, la malnutrition, les facteurs génétiques tels que la présence des oncogènes actifs et de gènes suppresseurs de tumeurs , l'usage du tabac, une mauvaise hygiène personnelle, les infections virales telles que le VIH, le virus de l'herpès simplex de type II et les infections à *Neisseria gonorrhoeae* [4,5,6]. Il existe d'autres facteurs significatifs qui contribuent également à l'apparition de la maladie comme une augmentation de la population, une augmentation du nombre de personnes âgées, et l'urbanisation [7]. Le principal facteur de risque est la présence d'une infection chronique ou persistance par un ou plusieurs types de Papillomavirus Humain (HPV) à haut risque [8].

Le cancer du col de l'utérus est le premier cancer solide gynécologique dont l'origine viro-induite est démontrée. Dans les années 1970, Harold zur Hausen a émis l'hypothèse d'une corrélation entre le CCU et l'infection causée par le HPV et ses travaux pour la confirmation de la présence de l'ADN viral de l'HPV dans les lésions cancéreuse du col lui ont valu le prix Nobel de Médecine en 2008 [8]. Le virus est considéré comme un facteur obligatoire mais non suffisant pour le développement du processus malin [9].

Le Papillomavirus Humain appartient à la famille des *Papillomaviridae*. C'est un virus nu à capsidie icosaédrique renfermant un génome à ADN circulaire bicaténaire contenant 6000 à 8000 paires de bases qui constituent huit gènes divisés en deux régions : la région Précoce (E)

et la région tardive (L). La région E comprend plusieurs cadres ouverts de lectures (E1 à E7 ou E8) codant pour des protéines non structurales, E6 et E7 sont responsable du pouvoir oncogène du virus. La région L comprend deux cadres ouverts de lecture (L1 et L2) codant pour les protéines structurales de la capsid [10].

Plus de 200 différents génotypes de HPV ont été identifiés. Les types de HPV sont classés comme étant à faible risque ou à haut risque sur la base sur leur potentiel oncogène. Ainsi, les HPV 6 et 11 sont classés comme HPV à bas risque (HPV-BR) par leur faible potentiel oncogène par contre les HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 69, 73 et 82 sont classés comme HPV à haut risque (HPV-HR) [2]. Ces génotypes à haut risque sont responsables de nombreuses anomalies vulvaires, vaginales, du pénis, de la voie bucco-pharyngée, et des cancers de l'oropharynx en plus d'être responsables du cancer du col utérin [11]. Les génotypes HPV-HR, HPV 16 et 18 sont responsables de plus de 70% de tous les cas du cancer du col dans le monde [12]. D'autre part, les génotypes HPV-BR de type HPV 6 et 11, sont responsables d'environ 90% des verrues anogénitales [13]. Ces données ont été la pierre angulaire dans la formulation de la stratégie actuelle basée sur la vaccination contre les génotypes HPV-HR liés à la maladie [14]. Dans le monde entier, le génotype le plus répandu est le HPV 16, suivie par le HPV 18 et 31 [15].

Compte tenu de la nature dynamique de la population mondiale d'aujourd'hui en raison de la facilité de voyage et de frontières relativement poreuses, il ne serait pas surprenant de voir des changements dans la prévalence et la distribution des génotypes HPV dans une population donnée. Par exemple, une étude récente de Hong Kong a montré que la proportion de HPV 16 a significativement augmenté au cours des 35 dernières années, passant de 45,2% au cours des années 1972-1973 pour atteindre un de taux de 61,2% entre les années 1997-2007. Dans la même période, le HPV 52 a diminué, passant de 30,1% à 14,7% [16].

Le cancer du col de l'utérus est un cancer évitable en grande partie. L'histoire naturelle de la maladie est bien connue. L'infection par l'HPV est le plus souvent silencieuse et s'étale sur plusieurs années. Cette infection survient dans 40% à 50% chez des femmes sexuellement actives [17]. Elle est transitoire dans la plupart des cas et dure en moyenne huit mois et disparaît au bout d'une année dans 70% des cas et à deux ans dans 91% des cas [18]. La progression lente de la maladie est bien connue. La persistance de l'infection par un type

d'HPV oncogène, aboutit à l'apparition des lésions précancéreuses (CIN) qui eux même peuvent régresser ou évoluer vers un cancer invasif du col utérin. L'évolution d'une lésion précancéreuse à un cancer prend une période de 10 à 20 ans [18]. Ce passage fait la particularité de ce type de cancer du fait qu'il donne suffisamment du temps pour dépister, détecter et traiter ces lésions précancéreuses et éviter leur évolution vers un CCU [18].

Le diagnostic du cancer du CCU se fait grâce au dépistage par le frottis cervico-utérin puis la reconnaissance colposcopique d'une lésion sur laquelle sera réalisée une biopsie. L'aspect le plus caractéristique, voire pathognomonique, est la présence du koïlocyte. Les lésions cytologiques du frottis cervical se classent suivant le système de BETHESDA (système officiel de l'Académie internationale de cytologie) dont les nouvelles propositions ont été publiées en 2001 : Atypical Squamous Cells (ASC), Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US); Atypical Squamous Cells cannot exclude High grade Squamous Intraepithelial Lesion (ASC-H); Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL) ; High grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL) et Carcinome in situ (CIS) [19]. Les HPV sont détectés de façon variable dans les voies génitales en fonction des techniques d'identification, de l'âge de la patiente et des lésions cytologiques présentes. En utilisant les techniques moléculaire par PCR ou par hybridation, on trouve entre 10 et 30 % d'HPV sur des cols normaux en colposcopie et dont le frottis est normal [20]. Dans les frottis ASC-US les tests HPV sont positifs dans 30 à 50 % des cas, dans les LSIL plus de 80 % et plus de 90 % dans les HSIL [21,22]. Dans les cancers, HPV est trouvé dans près de 100 % des cas [23,24].

Le cancer du col de l'utérus peut être évité grâce à la vaccination. Il existe trois vaccins contre les infections à Papillomavirus Humain, le vaccin quadrivalent, le vaccin bivalent et le vaccin nonavalent. En Juin 2006, aux États-Unis, la FDA (Food and Drug Administration) a autorisé le premier vaccin contre le HPV, le vaccin quadrivalent, pour une utilisation chez les femmes âgées de 9 à 26 ans. Par la suite, en 2009, une utilisation du vaccin pour les garçons âgés de 9 à 26 ans a été approuvée [25]. Le vaccin quadrivalent protège contre les infections à HPV à haut risque et à HPV à faible risque de types 16, 18, 6 et 11. Ce vaccin protège contre le cancer du vagin et de la vulve et contre l'apparition des verrues génitales en plus de protéger contre le cancer du col de l'utérus [25]. Le vaccin bivalent est un vaccin qui a été

approuvé par le FDA en 2009. Ce vaccin protège contre le HPV 16 et 18. Et en 2014 le FDA a approuvé le vaccin nonavalent qui protège contre les cancers du col utérin, de la vulve, du vagin et de l'anus dues aux HPV 16,18, 31, 33, 45, 52 et 58 et protège contre les condylomes acuminés dues aux HPV 6 et 1. Ce vaccin est indiqué chez les filles et les garçons à partir de 9 ans jusqu'à 45 ans [25].

Dans la région du Moyen-Orient et Nord-Africaine (MENA), le cancer du col utérin est parmi les principaux cancers les plus mortels (4.6 milles de décès en 2012) [3]. L'incidence du cancer du col utérin est estimée à 10000 nouveaux cas en 2012 [3]. Cependant, on observe des différences relatives dans les fréquences du cancer du col utérin dans le monde, en raison des variabilités de la disponibilité des programmes de dépistage et des facteurs de risque, notamment dans les pays en développement qui ne disposent pas ou viennent de d'installer des plans de lutte contre le cancer [3].

La connaissance de la prévalence et la distribution des génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans la population est primordial pour mener à bien les stratégies de lutte contre le cancer du col utérin.

Les objectifs de notre étude sont de déterminer la prévalence des génotypes HPV à haut risque oncogène chez les femmes de la région de Blida, de connaître la distribution des génotypes à haut risque selon l'âge et selon l'anomalie cytologique.

I- RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I- RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 LES PAPILOMAVIRUS

I.1.1 Structure virale

Les Papillomavirus Humains (HPV) sont des petits virus nus, leur taille varie entre 45 à 55 nm de diamètre. Ces virus possèdent une capsidie à symétrie cubique constituée de 72 capsomères en structure icosaédrique (Figure 1, Figure 2). Leur génome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire circulaire d'environ 6000 à 8000 paires de bases dont les séquences codant pour les protéines virales sont regroupées sur un seul brin avec différents cadres ouverts de lecture ou ORF (Open reading Frame) qui se chevauchent [24].

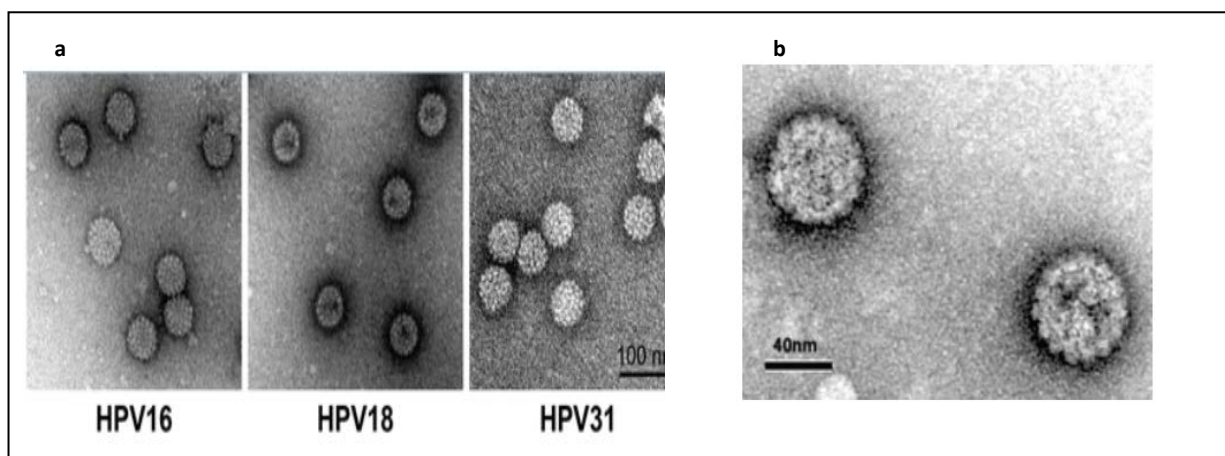


Figure 1. Particules virales de différents types d'HPV observées au microscope électronique (MET) :
a : Structure de différents Papillomavirus Humains; *b* : Particules du virus HPV-16. (S.Beaudin, 2015) [26].

L'organisation génétique des HPV est divisée en trois régions : une région de régulation non codante LCR (Long Control Region) ou URR (Upstream Regulatory Region), une région E (Early) codant pour des protéines régulatrices ou impliquées dans la réplication de l'ADN (E1 à E7) et une région L (Late) codant pour les protéines structurales de la capsidie (L1 et L2) [24] (Figure 3).

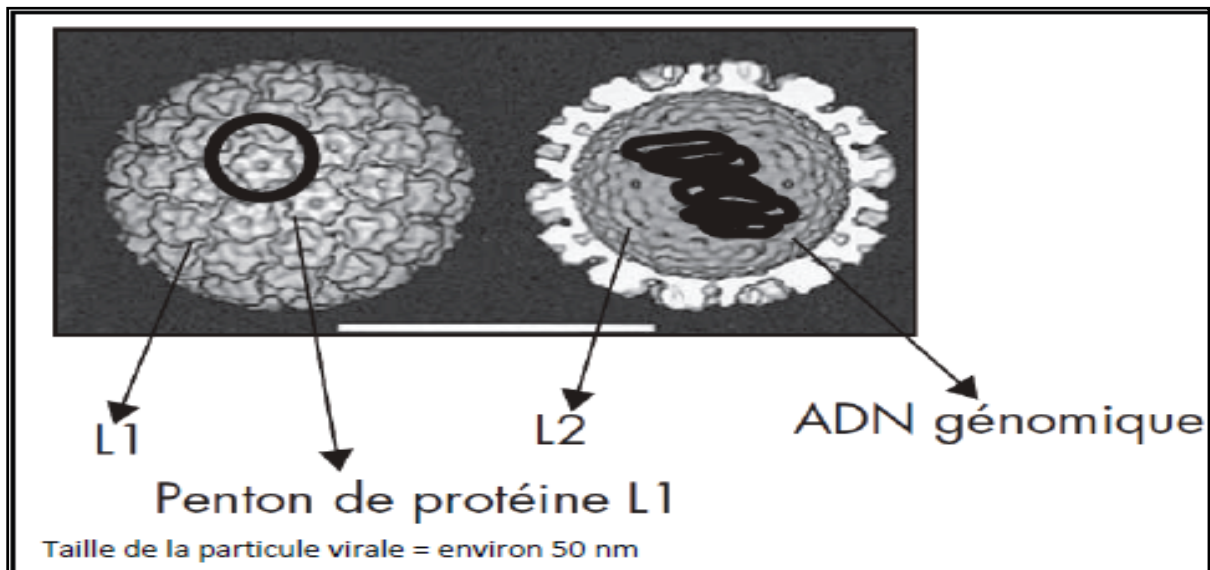


Figure 2. Organisation de la capside d'un virion HPV-16 avec une vue montrant la protéine L2 (rouge) de la capside associée à la surface intérieure de la protéine L1 (bleu). (S.Alain, 2010). [27]

La région non codante LCR contient les promoteurs des gènes précoces (p97 pour HPV16 et p105 pour HPV18). En amont des promoteurs, elle comporte des séquences régulatrices de la réplication et de la transcription. C'est une région très variable constituée de 400 à 1000 nucléotides, soit environ 10 % du génome [24,28].

La région E (Early) représente 50 % du génome et code pour les protéines précoces E1 à E7 [28,29]. La région tardive L (Late) contient deux régions L1 et L2 qui codent pour les deux protéines structurales L1 et L2. Les principales fonctions des protéines précoces (E1, E2, E3, E4 et E5) et des protéines structurales L1 et L2 sont résumées dans le tableau 1.

Les protéines E6 et E7 jouent un rôle clé puisqu'elles sont nécessaires au cycle viral productif et à la transformation cellulaire induite par les HPV-HR. Leur expression est partiellement contrôlée par la protéine E2. Ce sont les seules protéines virales constamment exprimées dans le cancer du col utérin. Elles interagissent avec de nombreuses protéines et des voies de signalisation et de régulation cellulaires. L'une des principales cibles de la protéine E6 des HPV-HR est la protéine p53, qui possède une fonction de régulation négative du cycle cellulaire. En cas de dommage de l'ADN, elle peut provoquer un arrêt du cycle cellulaire permettant une réparation de l'ADN lésé. En cas de dommages trop importants, la protéine p53 peut induire l'apoptose, évitant la propagation de ces altérations aux générations

suivantes de cellules. La protéine E6 des HPV-HR induit la dégradation de p53 par le protéasome, alors que celle des HPV-BR réduit seulement son activité [28,29].

De son côté, la protéine E7 a pour fonction, dans le cycle viral productif, de favoriser le passage de la phase G1 à la phase S, permettant la réplication du génome dans les cellules suprabasales. La protéine E7 des HPV-HR interagit avec la protéine pRb, dont le rôle principal est de bloquer le passage de la cellule de G1 à S en se liant au facteur de transcription pRb. E7 favorise sa liaison à la calpaïne qui dégrade partiellement pRb, provoquant sa dégradation par le protéasome [28,29].

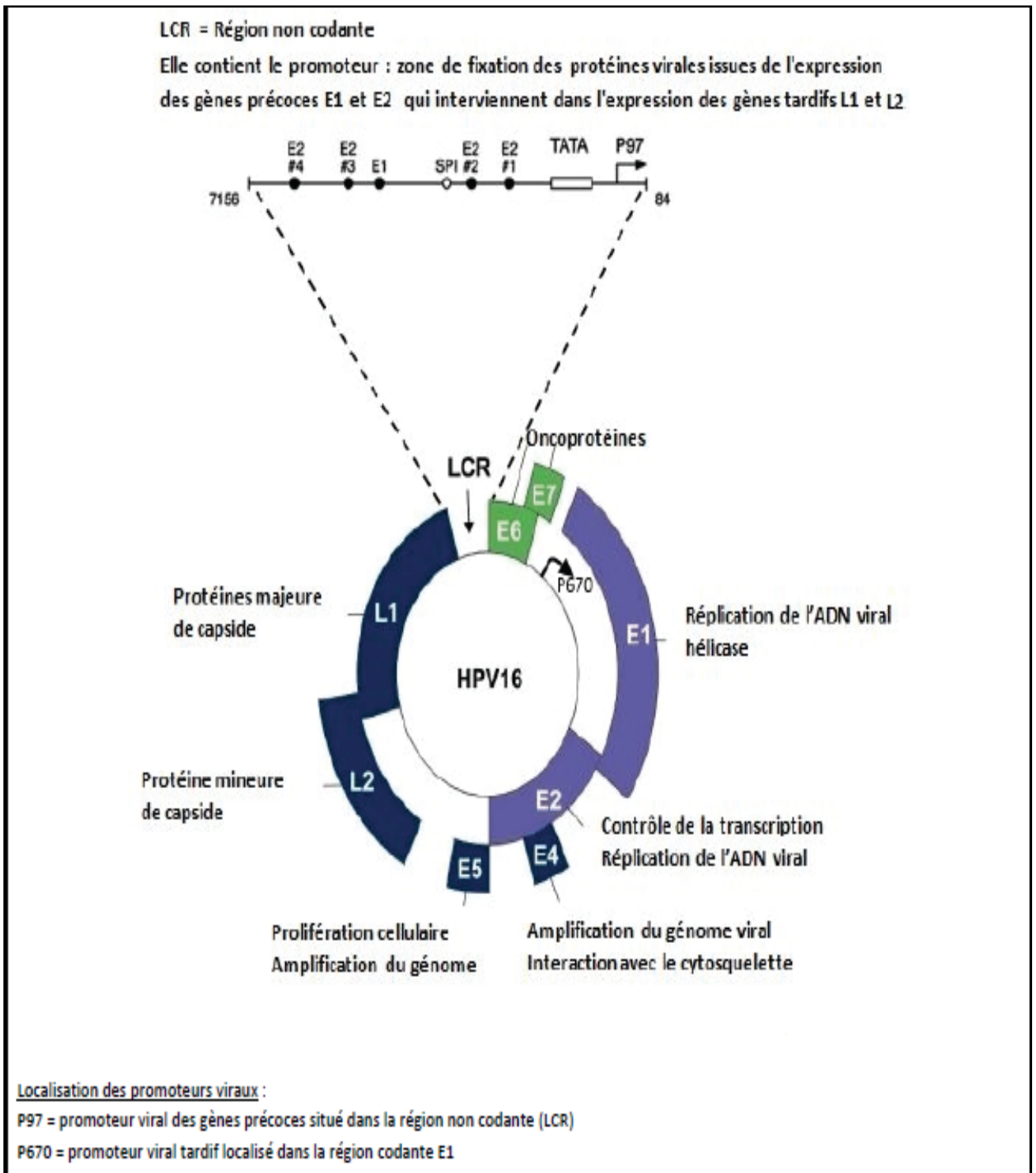


Figure 3. Représentation schématique du génome circulaire d'HPV-16 montrant la localisation des gènes Précoces (E : early) et tardifs (late : L1 et L2) et celle de la région LCR (long control region) (S.Beaudin, 2015) [26].

Tableau 1. Protéines virales et leurs principales fonctions (S.Beaudin, 2015) [26].

Protéines virales	Caractéristiques et fonctions
E1	<ul style="list-style-type: none"> - Impliqué dans la réplication de l'ADN viral - L'hétérodimère E1-E2 se lie à la séquence d'origine de réplication localisée dans la région LCR - Fonction hélicase qui permet de séparer les deux brins d'ADN avant leur réplication - Protéine très conservée au cours de l'évolution
E2	<ul style="list-style-type: none"> - Impliqué dans la régulation de la réplication et la transcription virale par intermédiaire des 200 acides aminés du domaine N-terminal
E4	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de fonction connue
E5	<ul style="list-style-type: none"> - Maturation et relargage des particules virales : - Facilite l'encapsidation du génome - Favorise la diffusion et la libération des virions - Intervient dans la destruction des filaments de cyto kératines des cellules infectées ce qui permet la libération des particules virales - Interaction avec les ARN hélicase des cellules infectées - Mutation des virions
E6	<ul style="list-style-type: none"> - Protéine oncogène se lie à p53
E7	<ul style="list-style-type: none"> - Protéine oncogène se lie à pRb
L1	<ul style="list-style-type: none"> - Protéine structurale majeure de la capsidie indispensable à la formation des particules virales qui se lie au récepteur de la cellule cible : - Cette protéine glycosylée, hautement conservée entre les Papillomavirus, porte les antigènes spécifiques de genre et certains antigènes spécifiques de type. La portion C-terminale de la protéine L1 d'HPV16 comporte deux signaux de localisation nucléaire qui permettent son transport dans le noyau où a lieu l'assemblage des différents constituants du virus. Les protéines L1 des Papillomavirus sont capables de s'auto-assembler VLP (virus-like particule). Celle-ci possèdent des épitopes conformationnels identiques que les protéines natives et sont hautement immunogéniques. - La portion N-terminale de L1 contient une séquence indispensable à la formation de VLP.
L2	<ul style="list-style-type: none"> - Protéine structurale mineure de la capsidie, moins conservée que la protéine L1. - Elle contient des antigènes spécifiques de type. Comme pour L1, sa portion C-terminale possède une séquence signal de localisation nucléaire permettant son transfert dans le noyau, alors que la portion N-terminale serait capable de lier l'ADN viral et de le positionner correctement au sein de la capsidie. Cette protéine L2 permet, en association avec la protéine L1, l'assemblage du virus et la stabilisation de la capsidie.

I.1.2 Classification des Papillomavirus

Les papillomavirus font partie d'une famille distincte, les *Papillomaviridae*, séparée des Polyomavirus auxquels ils avaient été classiquement rattachés. Les papillomavirus sont identifiés par l'abréviation PV et une ou plusieurs lettres indiquent leurs hôtes (HPV pour "Human Papillomavirus" ; CRPV pour "Cottontail Rabbit Papillomavirus" ; BVP pour "Bovine Papillomavirus"...).

La famille des *Papillomaviridae* comporte de très nombreux virus infectant diverses espèces de mammifères et d'oiseaux. Ces virus sont hautement spécifiques de l'espèce hôte ; il n'existe donc pas d'infections croisées avec d'autres espèces [30].

Il existe au moins 400 types de papillomavirus différents. Il est difficile de déterminer le nombre exact de types de virus, car des séquences virales partielles non chevauchantes dans la base de données GenBank peuvent représenter le même virus. Une étude récente trouve pas moins de 222 types différents de HPV présumés nouveaux dans différents types d'échantillons [31].

La classification des différents types d'HPV peut être basée sur leur séquence génomique, leur tropisme ou sur leur pouvoir oncogène.

I.1.2.1 Selon la séquence génomique

La classification est basée sur la comparaison de la séquence nucléotidique du gène L1, la région la plus conservée. 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 [32].

Une différence de 2 à 10% définit l'appartenance à un sous-type et une différence de moins de 2% définit un variant. C'est ainsi que les virus initialement dénommés HPV46, HPV55 et HPV64 sont maintenant considérés comme les sous-types respectifs de HPV20, HPV44 et HPV34 car ils présentaient un pourcentage d'homologie supérieur à 90% [32].

Les différents types de papillomavirus sont regroupés en espèces avec une homologie supérieure à 70% et les espèces (numérotées à l'aide d'un chiffre arabe) sont regroupées dans le même genre (désigné par une lettre grecque alpha à pi) si l'homologie de la séquence L1 est supérieure à 60% [31].

Il existe cinq types HPV : *α-papillomavirus*, *β-papillomavirus*, *γ-papillomavirus*, *μ-papillomavirus* et *ν-papillomavirus* (Tableau 2) [31]. Parmi les 65 types de HPV appartenant à *Alphapapillomavirus* (types Alpha-HPV), un nombre limité de virus (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) sont considérés comme oncogènes et sont associés au développement de lésions précancéreuses et cancéreuses [33; 34; 35].

Tableau 2. Classification des papillomavirus humains sur la base du gène codant la protéine majeure de capside L1. (Z.Chena, 2018) [31]

Genre	Espèce	Type principal	Autres types
Alpha-papillomavirus	Alpha-1	HPV 32	HPV 42
	Alpha-2	HPV 10	HPV 3, 28, 29, 78, 94
	Alpha-3	HPV 61	HPV 62, 72, 81, 83, 84, 86, 87, 89
	Alpha-4	HPV 2	HPV 27, 57
	Alpha-5	HPV 26	HPV 51, 69, 82
	Alpha-6	HPV 53	HPV 30, 56, 66
	Alpha-7	HPV 18	HPV 39, 45, 59, 68, 70, 85
	Alpha-8	HPV 7	HPV 40, 43, 91
	Alpha-9	HPV 16	HPV 31, 33, 35, 52, 58, 67
	Alpha-10	HPV 6	HPV 11, 13, 44, 74
	Alpha-11	HPV 34	HPV 73
	Alpha-12	HPV 1	
	Alpha-13	HPV 54	
	Alpha-14	HPV 90	
	Alpha-15	HPV 71	
Beta-papillomavirus	Beta-1	HPV 5	HPV 8, 12, 14, 19, 20, 21, 25, 36, 47, 93
	Beta-2	HPV 9	HPV 15, 17, 22, 23, 37, 38, 80
	Beta-3	HPV 49	HPV 75, 76
	Beta-4	HPV 92	
	Beta-5	HPV 96	
Gamma-papillomavirus	Gamma-1	HPV 4	HPV 65, 95
	Gamma-2	HPV 48	
	Gamma-3	HPV 50	
	Gamma-4	HPV 60	
	Gamma-5	HPV 88	
Mu-papillomavirus	Mu-1	HPV 1	
	Mu-2	HPV 63	
Nu-papillomavirus	Nu-1	HPV 41	

1.2.2 Selon le tropisme tissulaire

On distingue les types HPV à tropisme cutané et ceux à tropisme muqueux. Cette distinction n'est pas toujours absolue car certains types peuvent être placés dans les deux catégories. Les HPV cutanés appartiennent surtout aux genre *bêta* et *gamma-papillomavirus*, alors que les HPV muqueux appartiennent au genre *alpha-papillomavirus* (Tableau 3) [36].

Tableau 3. Distribution des types d’HPV selon leur tropisme. (M.Segondy, 2008) [36]

Tropisme	Types
Cutané	1, 2, 4, 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 36, 37, 38, 41, 47, 48, 49, 50, 57, 60, 63, 65, 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, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90
Mixte	3, 7, 10, 28, 29, 40, 43, 78, 91, 94

I.1.2.3 Selon le potentiel oncogène

Cette classification concerne les HPV à tropisme muqueux car elle est basée sur le risque de cancer du col de l’utérus associé à HPV.

On distingue les HPV à haut risque qui sont les HPV que l’on peut retrouver dans les lésions de haut grade ou les lésions cancéreuses et les HPV à bas risque que l’on retrouve dans des lésions qui ne présentent pas un risque d’évolution maligne.

Les HPV à bas risque oncogènes, dont les représentants les plus courants sont HPV6 et 11 sont rarement retrouvés dans les cancers du col utérin [37].

Les HPV ano-génitaux bas risque sont représentés par (HPV 6,11,32,40,42,44, 54,55 ,61, 62,64,71,72 ,74,81,83 ,84,87,89 et 91) et HPV à haut risque sont représentés par (HPV 16,18,26, 31,33,35 ,39, 45,51,52,53,56,58,59,66,67,68,69,70,73,82,85 et 18) [37].

Pour les HPV à tropisme cutané il n’y a pas actuellement de classification en fonction du risque oncogène, bien que certains types soient associés au développement de carcinomes cutanés [38].

L’Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) a classés les HPV dans 4 groupes, selon leur risque oncogène : oncogènes, probablement oncogènes, possiblement oncogènes et inclassables quant à leur potentiel oncogène (Tableau 4) [36].

Tableau 4. Classification des HPV selon l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer, dernière mise à jour 7 avril 2015 (M.Segondy, 2008) [36].

Niveau de risque	Génotypes HPV muqueux	Génotypes HPV cutanés
1(oncogènes)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	
2A (probablement oncogènes)	68	
2B (possiblement oncogènes)	26, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85, 97	5, 8 (chez les patients atteints d'une épidermodysplasie verruciforme)
3 (non classables quand à leur potentiel oncogène chez l'homme)	6, 11	HPV des genres beta (sauf 5 et 8) et gamma

Les principaux HPV-HR correspondent aux HPV des groupes 1 et 2A, les premiers étant dits « oncogènes » (avec en particulier les HPV 16 et 18) et les seconds « probablement oncogènes ». Ces deux groupes sont impliqués dans 96 % des cancers du col de l'utérus, les HPV 16 et 18 représentant à eux deux plus de 70% des cas (HPV 16 étant responsable de 50% des cas à lui tout seul). Le groupe 2B (« possiblement oncogènes ») contient des HPV classés auparavant comme haut risque (comme HPV 66 et 82), probablement haut risque ou à risque intermédiaire (comme HPV 26 et 53) et bas risque comme HPV 70. Les HPV 6 et 11, classés dans le groupe 3 et principaux responsables des condylomes acuminés, sont considérés comme des HPV-BR [36; 39].

I.1.3 Cycle viral

Les HPV sont des virus qui ont un tropisme viral spécifique cutané-muqueux. Leurs cellules cibles sont les kératinocytes au niveau de la couche basale de l'épithélium malpighien. La pénétration du virus à ce niveau ne se fait qu'en présence d'une microlésion.

Ces épithéliums malpighiens sont situés au niveau cutané (couche de l'épiderme), au niveau des voies aérodigestives supérieures (VADS) (Cavité buccale, pharynx, œsophage, moitié supérieure du larynx), du canal anal et de l'appareil génital. Les HPV infectent l'épithélium en pénétrant à la faveur de microlésions dans les cellules de la couche basale. Au niveau du col de l'utérus, cette pénétration est facilitée au niveau de la zone de jonction entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol, qui est particulièrement vulnérable [28,40].

L'attachement des particules virales est réalisé par l'intermédiaire de récepteurs de la famille des intégrines et des héparanes sulfates présents à la surface des cellules de la membrane basale exposée suite à une microlésion. L'entrée dans la cellule se fait ensuite par endocytose, médiée par des vésicules à clathrine (HPV16 ou 18) ou par des vacuoles (HPV31) [28,40].

Le cycle viral est étroitement lié à l'état de différenciation des cellules épithéliales. Les protéines virales sont synthétisées de façon séquentielle dans l'épithélium infecté selon la différenciation cellulaire [28,40].

Après la décapsidation du virus, l'ADN viral migre dans le noyau du kératinocyte où il va y avoir une phase de maintien de l'épisome viral. Le virus et la cellule reproduisent leur génome en même temps, les protéines E1 et E2 contrôlant la réplication du génome viral par les enzymes cellulaires [28,40].

Les HPV contrôlent l'expression des protéines virales de façon très fine. Les protéines E6 et E7 sont ainsi exprimées à des taux faibles assurant le maintien des cellules suprabasales en phase de synthèse d'ADN (phase S via E7) tout en évitant leur apoptose (via E6) [28,40].

La phase de maintien est suivie d'une phase d'amplification du génome dans les couches suprabasales. Dans les couches plus superficielles de l'épithélium, les gènes codant pour les protéines L1 et L2 sont exprimés, aboutissant à l'assemblage de milliers de particules virales et à l'encapsidation de l'ADN viral. La protéine E4, synthétisée tardivement, est responsable des modifications du cytosquelette de la cellule hôte associées au trafic intracellulaire des

constituants viraux. Les particules virales seront libérées par les cellules desquamatives (Figure 4).

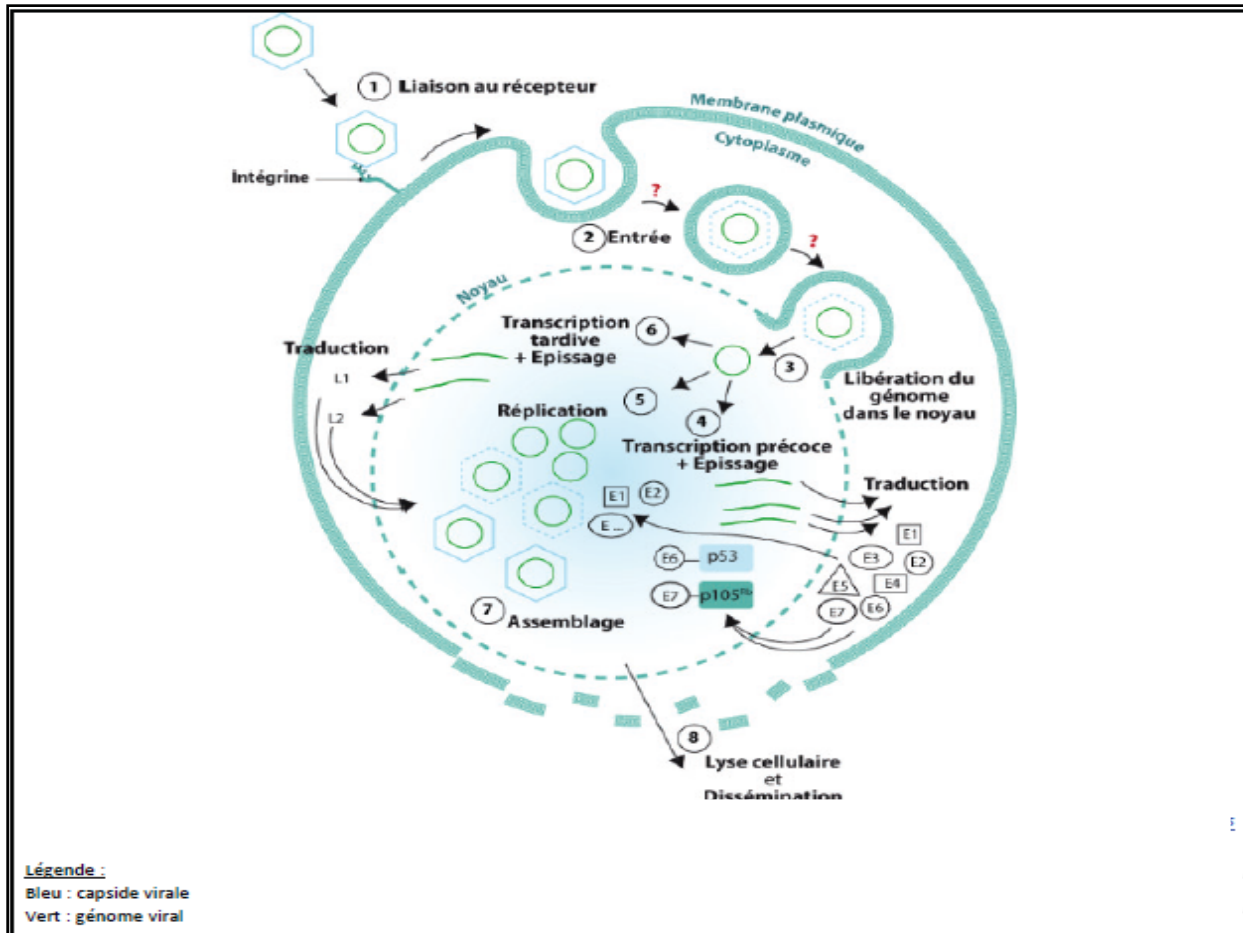


Figure 4. Les étapes du cycle de multiplication de HPV au niveau des cellules de la couche basale de l'épithélium malpighien (S.Beaudin, 2015) [26].

L'effet cytopathique caractéristique d'une infection productive à HPV est la présence de koilocytes dans les couches superficielles ou intermédiaires. Ils correspondent à des cellules épithéliales squameuses présentant un noyau œdémateux, agrandi et à la chromatine irrégulière, ainsi qu'une vacuole intra-cytoplasmique peri-nucléaire refoulant le cytoplasme vers l'extérieur [28,41]. La présence de telles cellules est quasiment un signe pathognomonique. Les conséquences d'une infection persistante sont reflétées par des changements nucléaires de plus en plus sévères selon le grade de la lésion concernée, avec des figures de mitose et des bouquets de cellules pycnotiques (Figure 5).

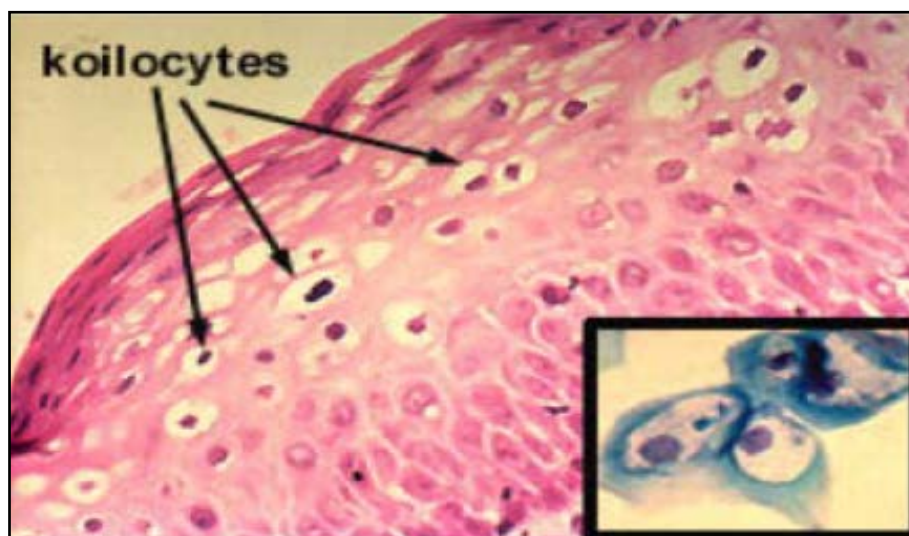


Figure 5. Coupe anatomopathologique contenant des cellules pathognomiques de l'infection à HPV : les koilocytes (F.Ait El Hadj, 2019) [28].

I.1.4 Transmission des Papillomavirus

Après libérations des HPV par les cellules desquamatives. Ces virus peuvent alors se propager au niveau du même ou d'autres épithéliums sains du même individu voire être transmis à une autre personne par contact direct ou indirect.

La principale voie de transmission de l'HPV est la voie sexuelle [42]. En effet, L'infection à HPV est la plus répandue des infections sexuellement transmissibles, dans le monde, il est estimé que 80% des individus sexuellement actifs seront infectés par au moins un type de HPV [43]. La période d'incubation varie de 1 semaine à plusieurs mois. Au niveau du col utérin, c'est la zone de jonction pavimento-cylindrique qui est concernée car elle est la plus sujette aux microlésions, en particulier à l'occasion de rapports sexuels [44]. Du fait de leur mécanisme de transmission identique, plusieurs espèces d'HPV peuvent être simultanément ou successivement transmises, et les co-infections sont possibles (20 à 30 %) dans la population générale féminine. Les hommes peuvent également être infectés par plusieurs types de HPV (51 % de co-infections) et peuvent donc transmettre plusieurs types, simultanément ou successivement [45].

La transmission peut se faire aussi par contact non sexuel. En effet, les HPV étant des virus non enveloppés, ils peuvent survivre dans le milieu extérieur et peuvent être transmis par l'intermédiaire de mains ou objets souillés (linge de toilette, serviettes de bain) ou l'eau

souillée et surfaces mouillées (Bain et piscine). Ces éléments soulignent l'importance du respect des règles d'hygiène notamment dans le milieu médical afin d'éviter la transmission par le matériel souillé (colposcopes, spéculums, outils chirurgicaux...) [45].

Les différents types de HPV ont des sites de localisations spécifiques sur le corps, de façon que les types génitaux ne causent pas de lésions sur l'épithélium non génital et les verrues cutanées non génitales ne sont pas transmises dans des zones ano-génitales où elles pourraient possiblement causer des verrues. Cependant, la transmission de l'HPV est possible entre les partenaires sexuels par le biais des mains [46]. Ainsi, une auto- ou hétéro-transmission à partir de verrues lors des attouchements ou de la toilette intime est possible. Ce phénomène d'auto-inoculation peut expliquer le caractère souvent multifocal des lésions à HPV, en particulier au niveau du tractus génital [46].

Les HPV génitaux sont également retrouvés dans les poils pubiens et les sécrétions génitales [46]. Les infections externes pouvant migrer secondairement au niveau du col, l'infection est possible même en l'absence d'acte sexuel et de pénétration, et une lésion au niveau du col doit faire rechercher une autre localisation au niveau de l'ensemble du périnée [46]. Ceci explique également les données controversées concernant la protection conférée par l'usage de préservatifs, en particulier chez la femme [47]. En effet, les méthodes de contraception dites de barrière (préservatif par exemple) ne sont que partiellement efficaces car le virus peut être présent sur la plupart de la zone anogénitale (y compris sur des zones non protégées par le préservatif) et il peut demeurer infectieux pendant des années [47]. Cependant, l'utilisation du préservatif permet de diminuer de façon significative la fréquence des infections cervicales et vulvo-vaginales par les HPV [47]. La circoncision masculine est considérée aussi comme un moyen de protection contre l'infection à HPV et contribue à la diminution du risque de l'infection chez l'homme [47,48].

Une transmission de la mère à l'enfant lors de l'accouchement par voie basse est possible, et peut causer des papillomes laryngés de l'enfant [49]. Le risque pour un enfant né de mère porteuse de condylome d'avoir une papillomatose laryngée est estimé de 1/80 à 1/1500 [49]. Le risque de transmission est donc relativement faible [49].

Le développement d'une papillomatose laryngée juvénile est donc rare mais potentiellement grave avec un traitement difficile et un risque d'asphyxie [50].

Certaines publications font état de contaminations par voie sanguine [51] ou par voie ascendante avec membranes intactes [52].

I.1.5 Oncogénèse des Papillomavirus

Le processus oncogène des papillomavirus humains est basé sur deux points essentiels : l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN cellulaire et l'expression des protéines oncogènes E6 et E7 (Figure 6).

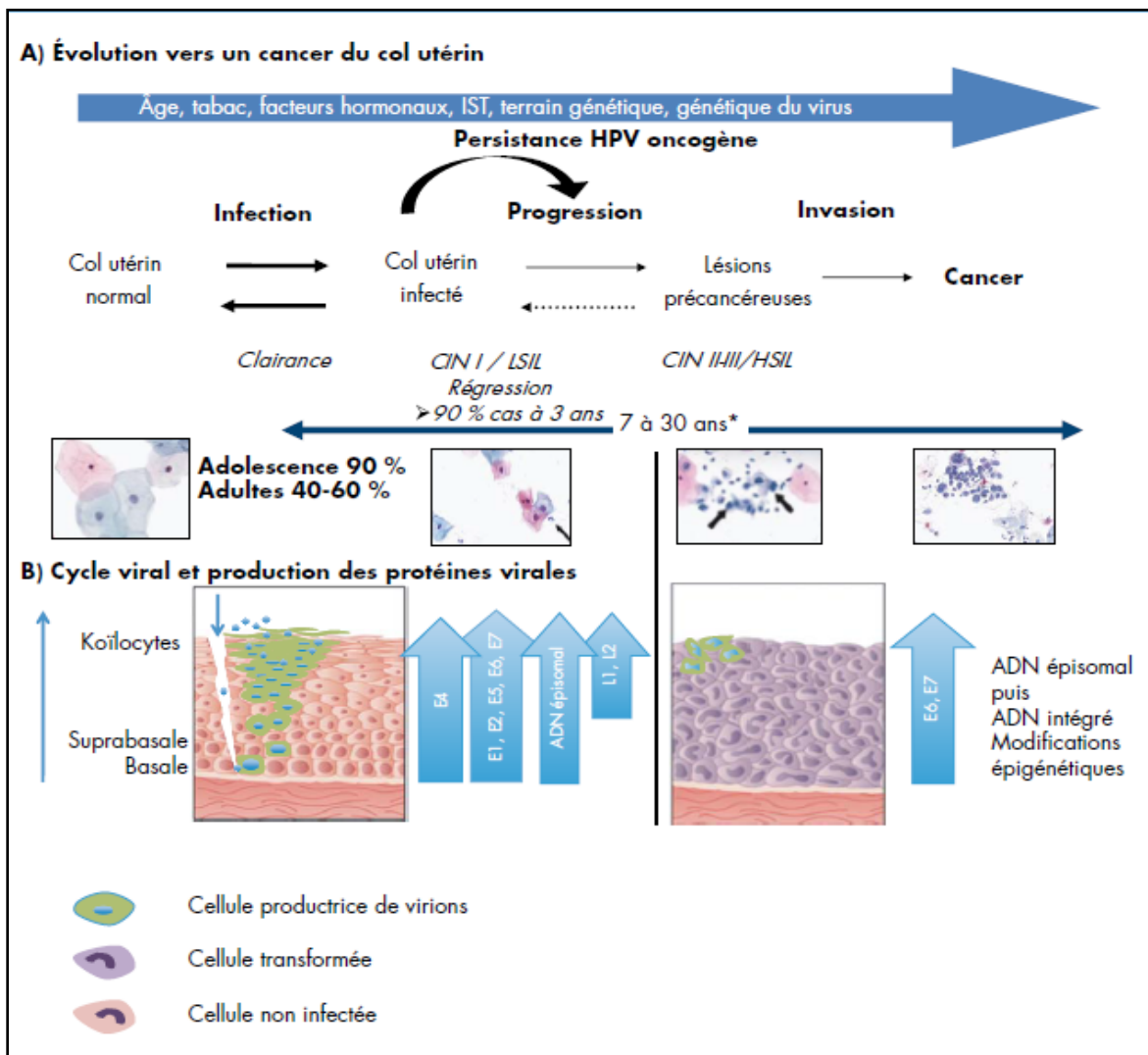


Figure 6. Cycle viral et évolution vers une prolifération maligne au cours d'une infection par un HPV muqueux génital. (S.Alain, 2010) [27].

I.1.5.1 L'intégration de l'ADN viral

Dans les biopsies des carcinomes invasifs, les séquences d'ADN du HPV sont intégrées au génome de la cellule hôte. L'intégration de l'ADN est une étape fondamentale dans la progression vers le cancer. Cette étape ne concerne que les HPV à haut risque.

L'intégration se produit au niveau de la région de lecture E1/E2 provoquant la perte d'expression de la protéine E2 qui n'inhibe plus l'expression des oncoprotéines E6 et E7. La production excessive des oncoprotéines E6 et E7 entraîne une instabilité génomique et la transformation cellulaire [53].

Dans les biopsies des lésions précancéreuses cervicales, le génome viral est surtout présent dans les cellules dysplasiques sous forme épisomale. Ainsi, l'intégration n'est jamais observée dans les néoplasies intraépithéliales de stade 1, et n'est notée que dans moins de 5% des néoplasies plus sévères. Par contre, l'intégration est observée dans 75% des cancers HPV 16 positifs, avec parfois présence mixte épisomale et intégrée, et dans 100% des cancers HPV 18 positifs [54].

I.1.5.2 Rôle des oncoprotéines E6 et E7

L'augmentation de l'expression des gènes E6 et E7 est primordiale pour l'oncogenèse, en particulier dans les couches basales de l'épithélium infecté. Les oncoprotéines E6 et E7 sont constamment retrouvées dans les cellules tumorales. La protéine E5 possède aussi des propriétés transformantes, mais cette protéine n'est pas indispensable pour la transformation cellulaire. Les protéines oncogènes E6 et E7 interagissent spécialement avec des protéines impliquées dans le cycle cellulaire, l'apoptose, la réponse immunitaire et l'angiogenèse [28].

Les oncoprotéines E6 et E7 sont responsables de la dégradation respective des protéines p53 et pRb qui sont des produits de gènes suppresseurs de tumeur et qui ont pour fonction d'empêcher la prolifération des cellules cancéreuses [28].

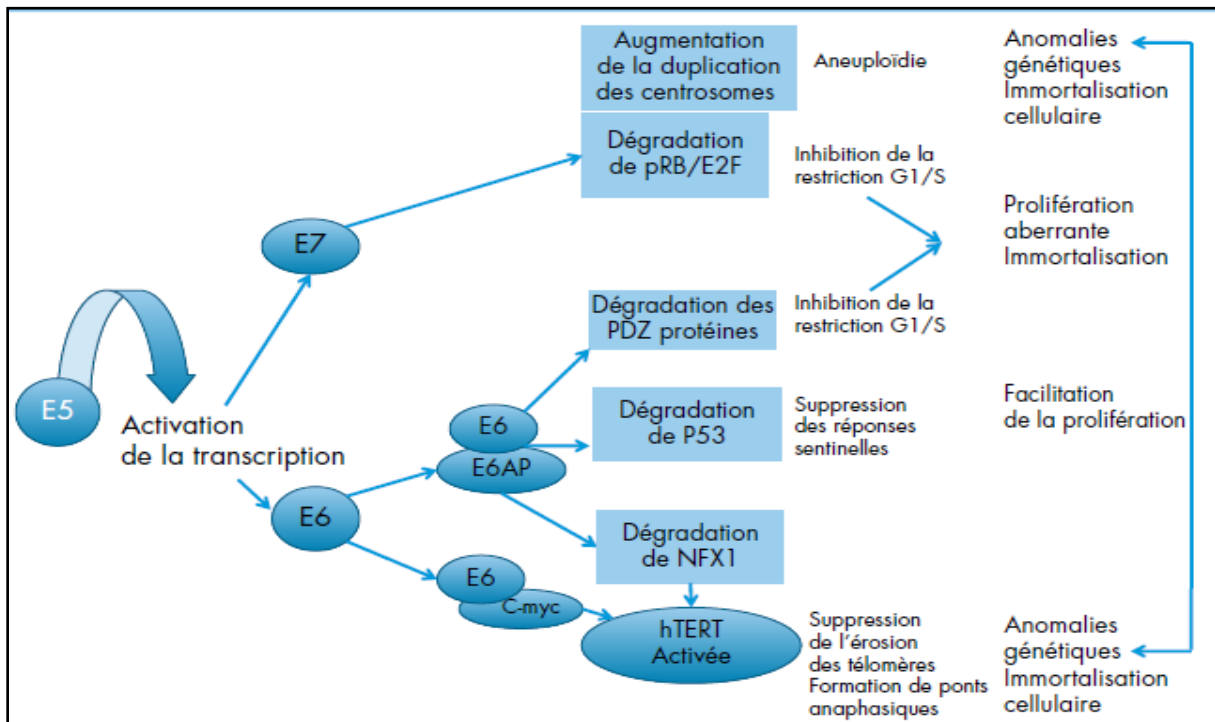


Figure 7. Coopération des protéines E6, E7 et E5 des HPV-HR dans la persistance virale et l'oncogenèse virale. (S.Alain, 2010) [27]

La cible la plus importante de l'oncoprotéine E6 est la protéine 53. E6 va former un complexe ternaire avec p53, ce qui aboutit à la dégradation de la protéine 53 (figure 7). La p53 est la protéine « gardien du génome » : elle est responsable de l'arrêt du cycle cellulaire quand l'ADN est lésé et de l'apoptose si l'ADN est trop endommagé [55,56].

Ainsi, E6 perturbe la réponse cellulaire de p53, empêchant alors l'arrêt de la croissance et l'apoptose induits par cette protéine et contribue donc à l'accumulation des mutations génomiques dans les cellules infectées.

La protéine E7 se fixe spécifiquement à la forme hypophosphorylée de la protéine du rétinoblastome (pRb) et conduit à sa dégradation. La forme hypophosphorylée de pRb est la forme active qui intervient de manière similaire à p53 en bloquant le cycle cellulaire afin de permettre à la cellule de réparer des dommages créés par des agents mutagènes [55,57].

Si les deux oncoprotéines E6 et E7 ont des activités indépendantes, leur présence simultanée semble indispensable pour immortaliser et transformer de façon efficace les cellules. L'action des oncoprotéines E6 et E7 sur les protéines p53 et pRb provoque des dérégulations favorables au processus malin [55,58] (Figure 7).

I.1.6 Infections à HPV et lésions associées

L'infection à HPV est généralement asymptomatique. Elle implique souvent plusieurs génotypes d'HPV et induit une protection partielle contre une nouvelle infection chez 50 à 70% des femmes. Aussi, elle peut s'accompagner par un développement de lésions bénignes, comme les condylomes ou des lésions dites de bas grade qui régressent spontanément le plus souvent, dans ce cas l'infection est productive avec un risque de contagiosité [59].

Dans environ 10% des cas, l'infection persiste et est à l'origine de lésions précancéreuses pouvant régresser spontanément ou évoluer vers un cancer après plusieurs décennies. Ces lésions sont généralement dues aux HPV à haut risque oncogène et peuvent induire des cancers du col de l'utérus, de la vulve, du vagin, du pénis, du canal anal ou de la sphère ORL. A ce stade le risque de contagiosité est faible [59].

Les infections à HPV sont transitoires, les infections à HPV 16 ou 18 sont éliminées en 16 mois environ, alors que les infections à HPV 6 ou 11 sont éliminées en 8 mois environ [59].

Seule la persistance des infections à HPV à haut risque est susceptible de développer des lésions précancéreuses et cancéreuses et plus la durée est longue, plus le risque de progresser vers un cancer est élevé [59] (Figure 8).

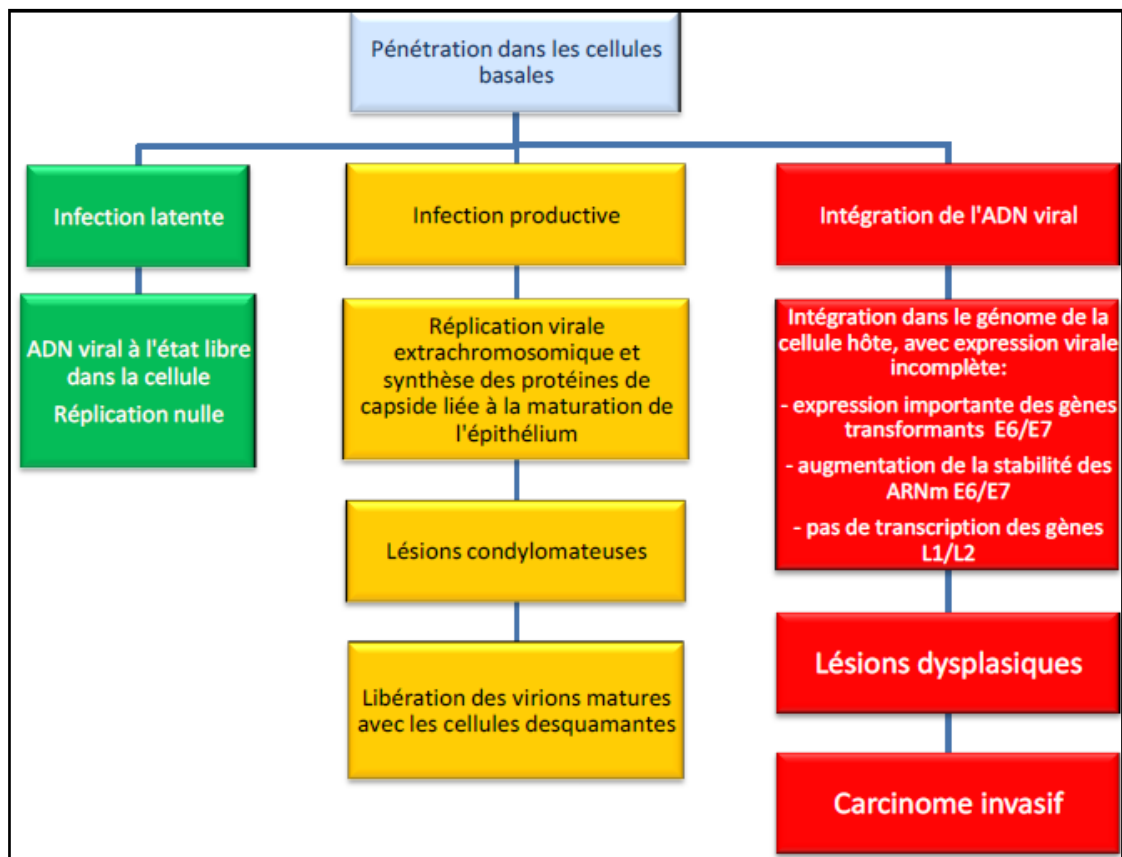


Figure 8. Devenir des HPV après pénétration dans les cellules basales de l'épithélium du col de l'utérus (S.Tawil, 2015) [60].

Selon son tropisme cellulaire et son pouvoir oncogène le virus HPV peut provoquer des lésions cutanées et des lésions anogénitales bénignes. Comme il peut provoquer des lésions cancéreuses au niveau des muqueuses ano-génitales et bucco-pharyngées.

I.1.6.1 Lésions cutanées

Les verrues constituent les lésions cutanées provoquées par l'infection à HPV, se sont des excroissances bénignes de la peau formées par prolifération intense des cellules du derme. Les verrues se présentent sous plusieurs formes : verrues plantaires, vulgaires, filiformes, planes. Les extrémités du corps et le visage sont les principales localisations des verrues. Ce sont les génotypes 1 à 4 qui sont souvent associés à ces lésions. Les verrues sont très contagieuses car les squames épidermiques infectées sont disséminés dans l'environnement. Environ 10% dans la population générale ont développé des verrues dans leur vie, les plus concernés sont les enfants et les adultes jeunes. Le pic de fréquence est situé entre 10 et 14 ans [55,61].

Le Papillomavirus Humain peut provoquer une infection cutanée chronique en présence de facetur génétique, c'est l'épidermodysplasie verruciforme, qui est une maladie génétique rare. Cette maladie se manifeste par des lésions cutanées diffuses à type de verrues planes et de macules rouge brun disséminées qui peuvent se transformer en cancers cutanés, sur les parties du corps exposées au soleil. Une vingtaine de génotypes sont impliqués dont les HPV 5, 8, 17 et 20, associés au processus néoplasique. Le rôle exact des HPV par rapport à l'action des UV n'est pas très clair. Pour certains, HPV ne jouerait que le rôle de cofacteur [55,61].

I.1.6.2 Lésions des muqueuses anogénitales

Ce sont les HPV à « bas risque » à tropisme génital qui sont des qui sont responsables des lésions bénignes (condylomes) au niveau des muqueuses génitales :

I.1.6.2.1 condylomes ano-génitaux

Ces condylomes sont localisés à différents niveaux des organes génitaux masculins ou féminins, parfois également au niveau de la région périanale. Leur forme peut être variée, les plus connus étant les condylomes acuminés appelés aussi « crête de coq ». Les condylomes peuvent aussi être papuleux, souvent associés aux condylomes acuminés, ou plans et dans ce dernier cas souvent invisibles à l'oeil nu. Un condylome géant de la région anogénitale appelé tumeur de Buschke-Lowenstein peut se développer, de manière assez rare, par l'action d'HPV 6 ou 11. Ce sont les HPV 6 et 11 qui sont retrouvés dans 90% des condylomes acuminés [55, 62].

I.1.6.2.2 Les néoplasies intraépithéliales

Contrairement aux condylomes, ces lésions sont des lésions invisibles à l'oeil nu ; ce sont des anomalies cellulaires détectables par cytologie ou histologie. Ce sont des lésions intra-épithéliales de bas grade du col de l'utérus, provoquées tant par des types à bas risque (10 à 15%) qu'à haut risque (85 à 90%) [55,63].

I.1.6.3 Lésions des muqueuses extragénitales

Le tropisme cutanéomuqueux de l'HPV fait que la présence de celui-ci au niveau des muqueuses buccales, muqueuses du larynx, de la trachée, des sinus, muqueuses conjonctivales, bronchiques, oesophagiens soit possible [55].



Figure 9. Illustrations des différentes lésions liées à l'infection à HPV. (S.beaudin, 2015) [26]

I.1.6.4 Cancers causés par les HPV à tropisme muqueux

Les HPV à haut risque oncogènes sont responsables de cancers au niveau de plusieurs sites anatomiques chez les hommes et chez les femmes : cancer du col de l'utérus, oropharyngé, anal, vulvaire et vaginal chez la femme ; cancer oropharyngé, anal et du pénis chez l'homme. La proportion de cancers attribuables aux HPV varie suivant le site anatomique (Tableau 5) [55,65].

En plus d'être responsable du cancer du col de l'utérus, le papillomavirus humain est détecté dans de nombreux autres cancers. Contrairement, au cancer du col, le virus n'est pas obligatoirement présent dans ces autres cancers [55,65].

Dans l'ouest Algérien, l'équipe de Nahet et al a étudié la place de HPV à haut risque oncogène dans les cancers ano-génitaux, les cancers des VADS et les cancers cutanées. L'étude a démontré que le HPV est responsable de 100% des cancers du col de l'utérus, 50%

des cancers péniens, 17% des cancers de la vulve, 40% des cancers du vagin. Le virus HPV n'a pas été retrouvé dans les biopsies des autres cancers (Tableau 5) [66].

Tableau 5. Cancers attribuables aux HPV

Cancer	Localisation	Part due au HPV
Cancer du col de l'utérus	Algérie	100% [66]
Cancer pénien	Monde	50% [65]
Cancer anal	Algérie	33% [66]
Cancer vulvaire	Algérie	17% [66]
Cancer du vagin	Algérie	40% [66]
Cancer de l'oropharynx	Amérique du Nord	56% [65]
	Europe du Nord et de l'Ouest	39% [65]
	Europe de l'Est	38% [65]
	Europe du sud	17% [65]
	Australie	45% [65]
	Japon	52% [65]
	Reste du monde	13% [65]

I.1.7 Réponse immunitaire anti-Papillomavirus

Après la pénétration des HPV dans les kératinocytes, les antigènes viraux peuvent être présentés à la surface de ces cellules sous formes de peptides de petites tailles (8 à 11 acides aminés), en association avec les molécules HLA de classe I ou de peptides de plus grandes tailles (13 ou 25 acides aminés), en association avec les molécules HLA de classe II présentes sur les kératinocytes infectés [67,68].

La stimulation du système immunitaire lymphocytaire T initialement naïf vis-à-vis des HPV passe obligatoirement par une présentation de l'antigène aux lymphocytes T, par des cellules présentatrices de l'antigène de la lignée des cellules dendritiques (CD) incluant les cellules de Langerhans présentes dans les épithéliums malpighiens. Les cellules de Langerhans ont la

propriété de pouvoir fixer les particules virales entières grâce aux recepteurs aux HPV qu'elles présentent à leur surface [68]. Elles ont aussi la propriété d'internaliser des particules virales, comme cela a été montré *in vitro* pour les cellules dendritiques et les particules virales vides. Les cellules de Langerhans ont ensuite la capacité de pouvoir migrer vers les organes lymphoïdes drainant les sites concernés et transportent alors soit les particules virales entières soit des corps apoptotiques de kératicocytes. Les cellules de Langerhans, après avoir capté l'antigène, subissent des transformations et l'expression de CCR 7 à leur surface leur permet de migrer sous l'attraction de la chimiokines MIP-3 beta [67,68].

Une fois dans ces organes lymphoïdes, les cellules de Langerhans elles-mêmes ou bien via d'autres cellules dendritiques présentent les antigènes à la fois aux lymphocytes T CD4+ et T CD8+ et stimulent la production des lymphocytes B [67,68] (Figure 10).

I.1.7.1 Réponse humorale

La production d'anticorps dirigés contre les protéines de structure du virus, L1 et L2, s'oppose à la pénétration des virus dans les kératinocytes cibles, après activation des lymphocytes B, aidés par les lymphocytes T CD4 [28,69].

Les anticorps neutralisants sont détectés à la fois dans le sérum et dans les sécrétions vaginales. Ces anticorps agissent comme des gardiens à la surface du col pour neutraliser et éliminer les HPV qui pourraient s'y présenter [28,69].

Les anticorps anti-HPV sont le reflet d'une infection naturelle que de véritables acteurs capables de lutter contre l'infection. En effet, ces anticorps sont synthétisés tardivement, 6 à 12 mois après une infection persistante, et seulement 72% des femmes infectées de manière persistante par HPV 16 ou 18 vont synthétiser des anticorps [28,69].

Les anticorps peuvent persister longtemps, dix à vingt ans, mais à un taux faible. L'absence de virémie est en partie responsable de cette faible réponse humorale. En effet, le virus ne circulant pas dans le sang, la stimulation des lymphocytes B est faible ce qui conduit à un faible taux d'anticorps et peu de cellules mémoire [28,69].

Ces anticorps ne jouent aucun rôle dans le contrôle des infections déjà établies ou l'évolution des lésions et ont peu d'impact sur une réinfection ultérieure par le même virus [28,69].

I.1.7.2 Réponse cellulaire

Les lymphocytes T stimulés acquièrent la propriété à leur tour, via un jeu de synthèse de chimiokines et d'expression de molécules de surface, de migrer grâce à la circulation sanguine cette fois, vers les épithéliums infectés et d'aller au contact des kératinocytes infectés. Le rôle des lymphocytes T dans l'élimination des kératinocytes infectés, même s'il n'a pas encore été démontré de façon formelle, est de détruire ces kératinocytes soit par cytotoxicité directe soit par l'interaction de la molécule Fas-L présente sur les lymphocytes T et de la molécule Fas présente sur les keratinocytes infectés ou tumoraux soit encore grâce à la synthèse par les lymphocytes T de cytokines comme le TNF. La reconnaissance des kératinocytes infectés par les lymphocytes T activés est favorisée par la synthèse d'IFN qui permet d'augmenter l'expression de molécules HLA de classe I et II à la surface des kératinocytes [67,70].

L'immunité à médiation cellulaire joue un rôle très important dans le contrôle des infections à HPV de bas et haut risque. En effet, l'examen anatomopathologiques de condylomes régressifs [67,69] a montré un infiltrat des lésions composé de lymphocytes T ; les immunomarquages pratiqués montrent qu'il s'agit de lymphocytes T CD4+ et CD8+ à la fois dans l'épithélium et dans le chorion. Par contre dans des lésions de haut grade non régressives, l'infiltrat CD4+ disparaît et seuls les CD8+ persistent [67,70].

Les études des réponses immunitaires cellulaires T CD8+ ont été faites majoritairement à partir des lymphocytes du sang périphériques (PBMC) de femmes ayant des CIN ou des cancers invasifs du col de l'utérus. Les antigènes viraux qui ont été le plus étudiés sont les protéines E6 et E7 d'HPV 16 qui sont des antigènes viraux exprimés forcement dans les lésions et de façon permanentes dans les kératinocytes tumoraux. Ainsi, chez des malades ayant des CIN liées à HPV 16, des lymphocytes T CD8+ ont été trouvés chez un très faibles pourcentage des malades : chez 1 malade parmi les 11 testés ayant une CIN 2, chez 3 parmi 10 malades ayant des CIN de grade 1 à 3, chez 2 parmi 11 malades ayant une CIN 3 [67,71]. Les autres essais menés à partir des PBMC de malades ayant un cancer invasif du col de l'utérus ont mis en évidence des lymphocytes T chez 2 sur 11, chez 4 malades sur 4 testés et chez 11 malades sur 12 [67,72].

La réponse lymphocytaire T CD4+ semble être davantage présente au cours des infections asymptomatiques, des lésions de bas grade ou au cours des CIN 3 et disparaît lors de l'évolution vers le cancer invasifs [67,73].

I.1.7.3 Mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire

Le développement de lésions précancéreuses du col est le témoin d'un échappement immunitaire face aux HPV, qui est propre à chacun, celui-ci est plus marqué pour les HPV 16 et 18. La majorité des infections à HPV de la jeune femme de moins de 30 ans est donc transitoire alors que celles observées après l'âge de 30 ans sont plus souvent persistantes et peuvent aboutir à des lésions. Les types 16 et 18 sont plus souvent persistants que les autres types viraux. La persistance des HPV chez les femmes de plus de 30 ans est peut être lié à des anomalies du système immunitaire favorisant ainsi le mécanisme de l'échappement [28,74].

Les mécanismes d'échappement semblent liés :

- A la production de particules virales seulement dans les couches superficielles de l'épithélium,
- Au déficit de l'initiation de la réponse immunitaire par des mécanismes de défaut de présentation des antigènes viraux,
- A la faible production virale, l'infection étant productive surtout dans les lésions de type condylomes,
- A l'absence de lyse cellulaire qui s'accompagne alors d'une absence de réaction inflammatoire et de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires locales, contribuant à un défaut d'activation lymphocytaire,

Malgré l'échappement immunitaire, la guérison spontanée est l'évolution la plus fréquente, démontrant qu'un processus de défense même imparfait est capable de limiter et de bloquer l'infection virale [28,74].

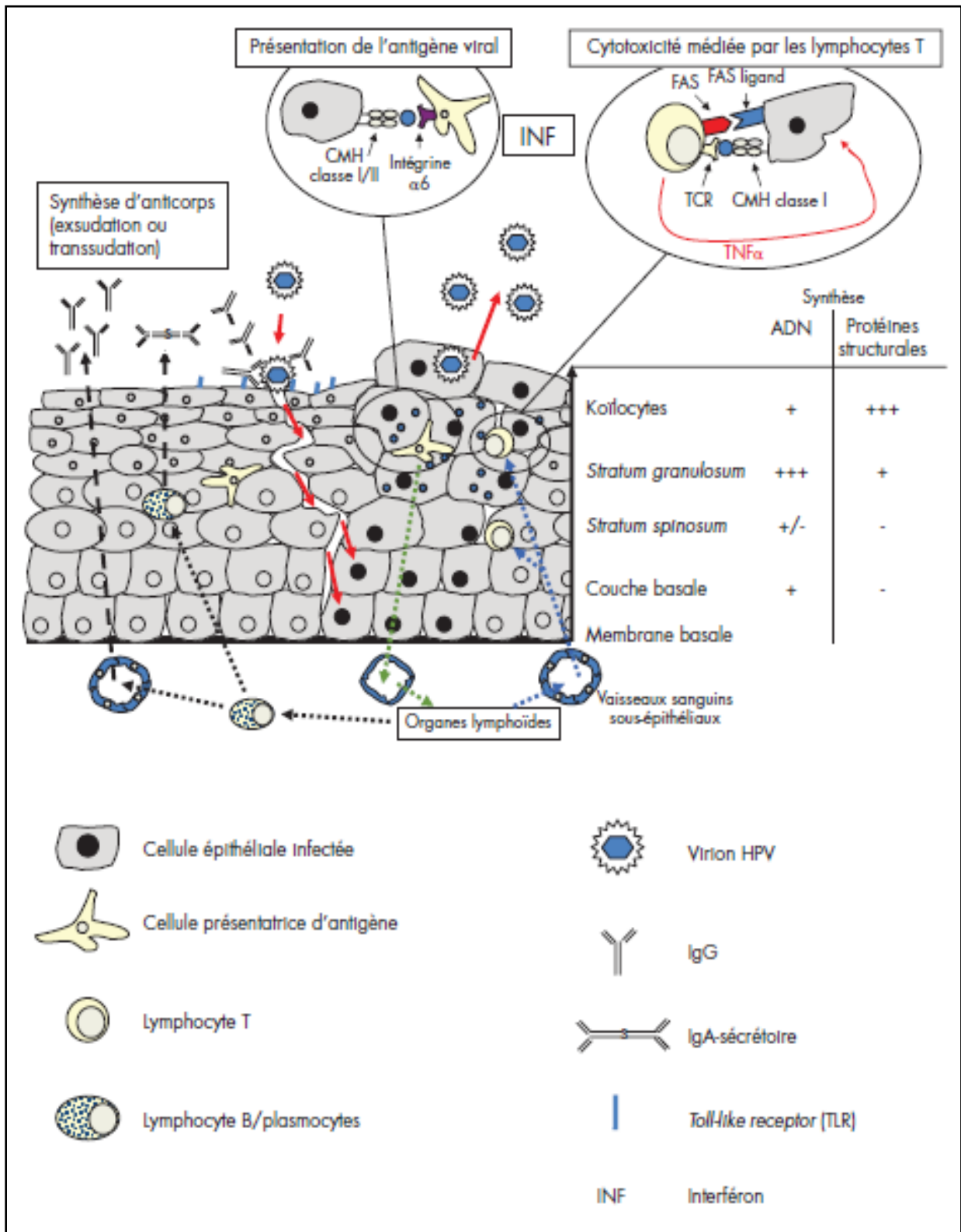


Figure 10. Physiopathologie de l'infection et réponse immunitaire naturelle au cours de l'infection par un HPV.

(S.Alain, 2010) [26]

I.2 LE CANCER DU COL DE L'UTERUS

I.2.1 Le col de l'utérus

I.2.1.1 Anatomie

L'utérus est un organe musculaire creux composé d'un fond, un corps, un isthme et un col. Les trompes établissent des liens entre l'utérus et la surface des deux ovaires. Ils sont ouverts sur la cavité utérine et la cavité péritonéale [28,75].

Le col de l'utérus est une partie arrondie et distale de l'utérus avec un canal central qui fait saillie dans le vagin [28,75].

L'exocol est tapissé par un épithélium malpighien, dit aussi épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, et l'endocol par un épithélium cylindrique [28,75].

La rencontre de ces deux types d'épithélium a lieu au niveau de la zone de jonction, également appelée jonction pavimento-cylindrique (JPC) (Figure 11).

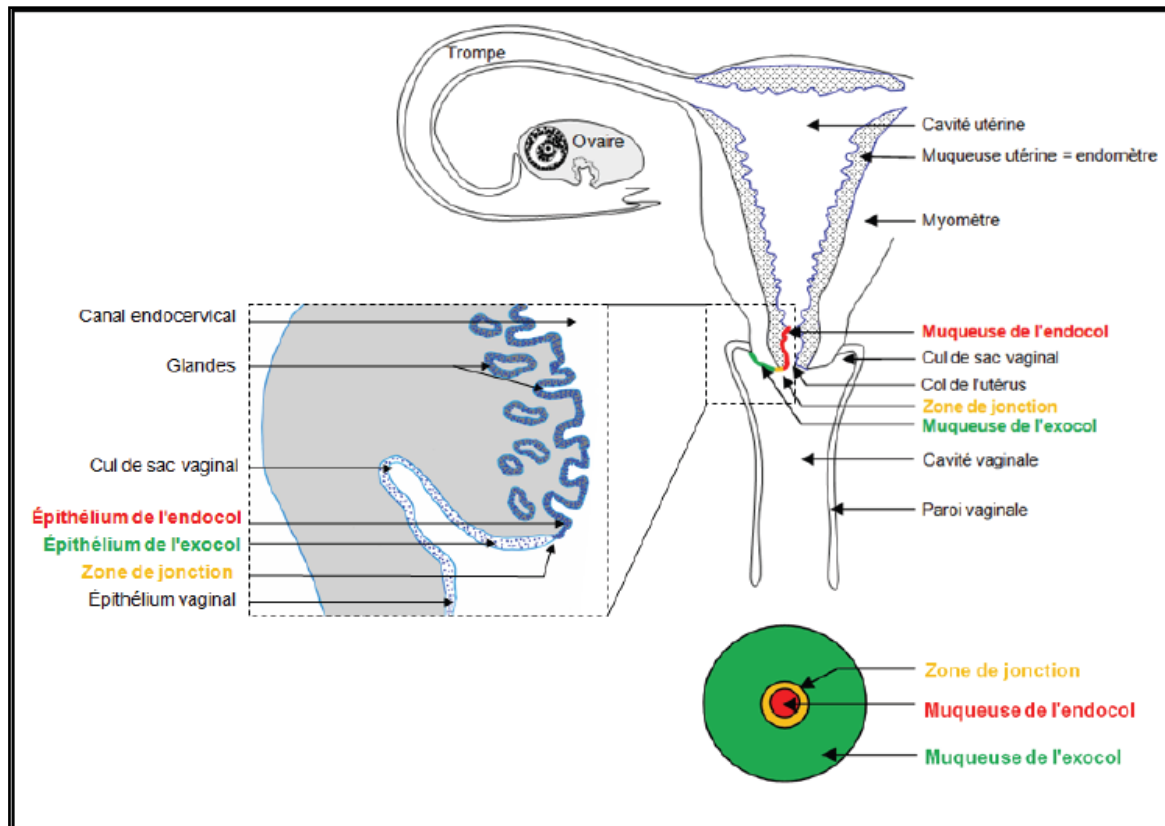


Figure 11. Schéma de l'anatomie de l'utérus en vue frontale et endovaginale (S.beaudin, 2015) [26]

I.2.1.2 Physiologie

Lorsqu'il est exposé à l'acidité vaginale, l'épithélium cylindrique est progressivement remplacé par un épithélium pavimenteux. Ce processus physiologique normal de remplacement de l'épithélium est appelé métaplasie pavimenteuse et donne naissance à une nouvelle JPC. La zone où se produit la métaplasie s'appelle la zone de remaniement (ou de transformation) et se situe donc entre la JPC originelle et la JPC nouvellement formée [55,75].

C'est au niveau de la zone de remaniement que se développent 99% des cancers. En effet, cette zone de jonction est particulièrement sensible, de par sa complexité, sa fragilité mécanique et la fréquence des microlésions, dues en particulier aux relations sexuelles [55,75].

I.2.2 Histoire naturelle du cancer du col

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus passe par plusieurs stades correspondant à des lésions histologiques précancéreuses (les néoplasies cervicales intraépithéliales ou CIN), 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 [76] (Figure 12).

En revanche, l'adénocarcinome, avant envahissement, n'est précédé que par une seule lésion, l'adénocarcinome *in situ*. L'histoire naturelle est moins bien connue. L'adénocarcinome *in situ* est une lésion déjà cancéreuse et fait également suite à la persistance de l'infection par un HPV à haut risque oncogène [76].

Il faut généralement entre 10 à 20 ans pour que les lésions précancéreuses provoquées par le virus évoluent en cancer invasif. La lenteur avec laquelle une dysplasie légère évolue jusqu'au stade de carcinome fait du cancer du col une maladie relativement facile à prévenir et justifie donc son dépistage [55,76].

Le potentiel évolutif de ces lésions est fonction du grade. Ainsi les lésions de bas grade (CIN1) montrent une fréquence de régression élevée et une fréquence de progression vers une CIN plus sévère ou un cancer faible. En revanche, les lésions de haut grade (CIN2 et CIN3)

régressent à un degré moindre alors que la fréquence de progression vers un carcinome invasif est élevée [55,76].

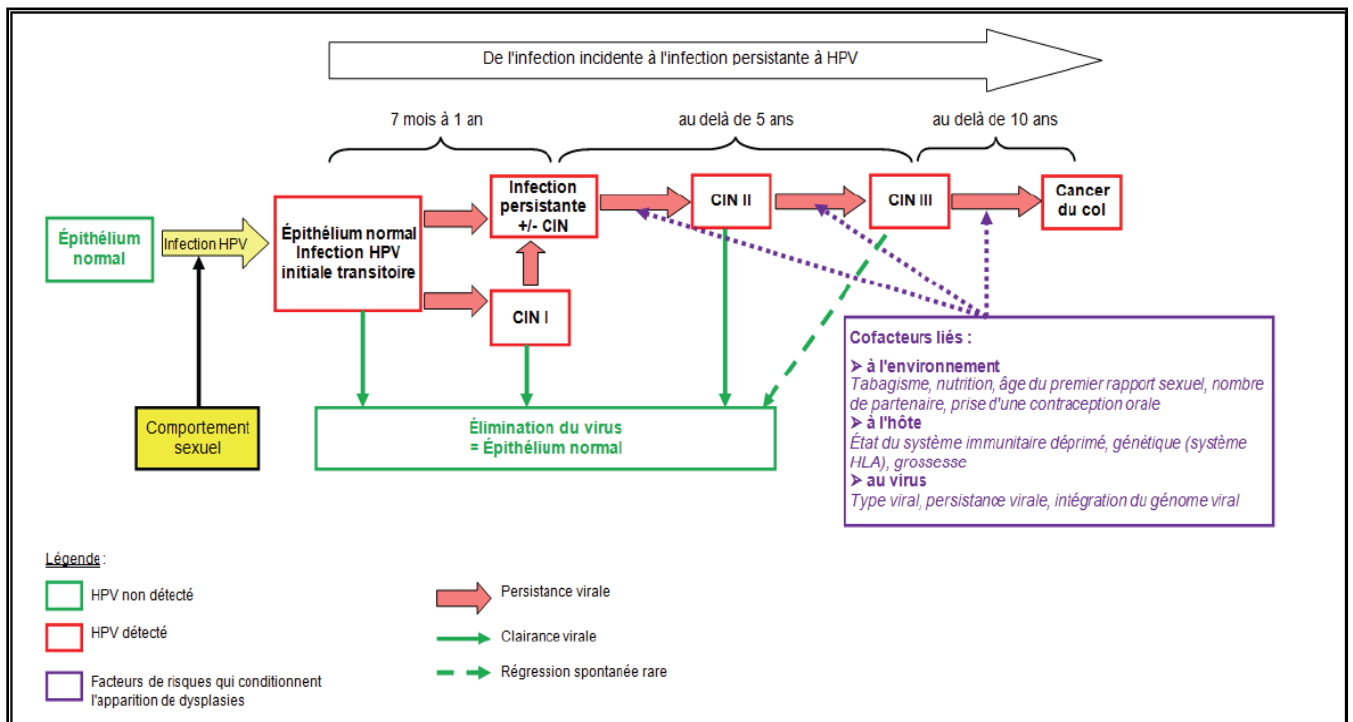


Figure 12. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus (S.beaudin, 2015) [26]

I.2.3 Rappel des différentes classifications histologiques des lésions précancéreuses

I.2.3.1 Classification de Papanicolaou

La classification de Papanicolaou est basée sur la préparation du frottis [77,78]. Elle comprend cinq classes :

- **Classe I** : frottis normal, très propre sans élément cellulaire d'origine extra-vaginale, signant l'absence de cellules anormales.
- **Classe II** : frottis normal, mais irritatif, inflammatoire et/ou avec présence de cellules extravaginales (endocervicales, endométriales, hématies), évocateur d'une cytologie atypique mais sans signe évident de malignité.
- **Classe III** : frottis suspect dont les altérations cellulaires ne permettent pas de conclure. On a donc une cytologie suggestive, mais non conclusive de malignité.
- **Classe IV** : frottis contenant d'authentiques cellules cancéreuses, mais peu nombreuses, correspondant à une cytologie très suggestive de malignité.

- **Classe V** : frottis riche en cellules cancéreuses, évoquant une cytologie conclusive de malignité.

Ce système simple, assez clair et surtout unique répondit très bien à l'attente des cliniciens.

Puis, avec l'évolution des connaissances, il devint trop approximatif et fût abandonné en 1991 pour le système cytologique de Bethesda [77,78].

I.2.3.2 Classification de l'OMS

Cette classification est basée uniquement sur l'histologie. Le terme de "dysplasie" est utilisé pour décrire les différents stades qui sont des étapes consécutives d'aggravation, avec possibilité de régression dans des proportions variables selon les auteurs. Avant 2014, la classification était la suivante [77] :

- Dysplasie légère : atteinte du tiers inférieur de la hauteur épithéliale,
- Dysplasie moyenne ou modérée : atteinte des deux tiers inférieurs de la hauteur épithéliale,
- Dysplasie sévère et carcinome *in situ* : atteinte de la totalité de la hauteur épithéliale.

La terminologie des l'OMS 2014 des lésions du col utérin propose le terme de lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade (LSIL) et de haut grade (HSIL), correspondant à :

- LSIL : condylome avec ou sans lésion de CIN1
- HSIL : CIN2 ou CIN3

I.2.3.3 Classification de Ralph-Richart

Le terme "dysplasie" devient ici Néoplasie Cervicale Intraépithéliale (NCI ou CIN), c'est-à-dire une identité lésionnelle unique qui évolue selon trois grades, en fonction de la hauteur épithéliale impliquée par les anomalies [77,79].

- Néoplasie cervicale intraépithéliale de grade I ou CIN1 : correspond à la dysplasie légère selon l'OMS,
- Néoplasie cervicale intraépithéliale de grade 2 ou CIN2 : correspond à la dysplasie modérée,
- Néoplasie cervicale intraépithéliale de grade 3 ou CIN 3 : correspond à la dysplasie sévère ou cancer *in situ*.

Cette classification est donc très proche de celle de l'OMS et fait toujours référence au modèle histologique. En 1989, elle évolua vers le système de Bethesda, introduisant les notions de CIN de bas et de haut grade [77,79].

I.2.3.4 Système de Bethesda

Ce système est une classification cytologique des lésions du col, accompagnée de recommandations sur la qualité du frottis [77,79].

Il est universellement utilisé et a permis d'uniformiser la dénomination des anomalies cervicales. Ce système a été proposé en 1988 et est régulièrement modifié.

Il sépare les lésions en deux groupes [77,79] :

- Lésions intraépithéliales de Bas Grade (LIBG ou Low grade Squamous Intraepithelial Lesion LSIL), comprenant les dysplasies légères ou CIN1 et les condylomes qui ont les mêmes caractéristiques virologiques et évolutives,
- Lésions épithéliales de Haut Grade (LIHG ou High grade Squamous Intraepithelial Lesion HSIL), comprenant les dysplasies modérées à sévères ou CIN2 ou 3.

Le système de Bethesda 2001 a pour objectif la standardisation de la pratique et de l'interprétation du frottis cervico-vaginal de dépistage. Ses différentes définitions permettent ainsi une meilleure harmonisation et une meilleure reproductibilité de la pratique et de l'interprétation des frottis [78,79].

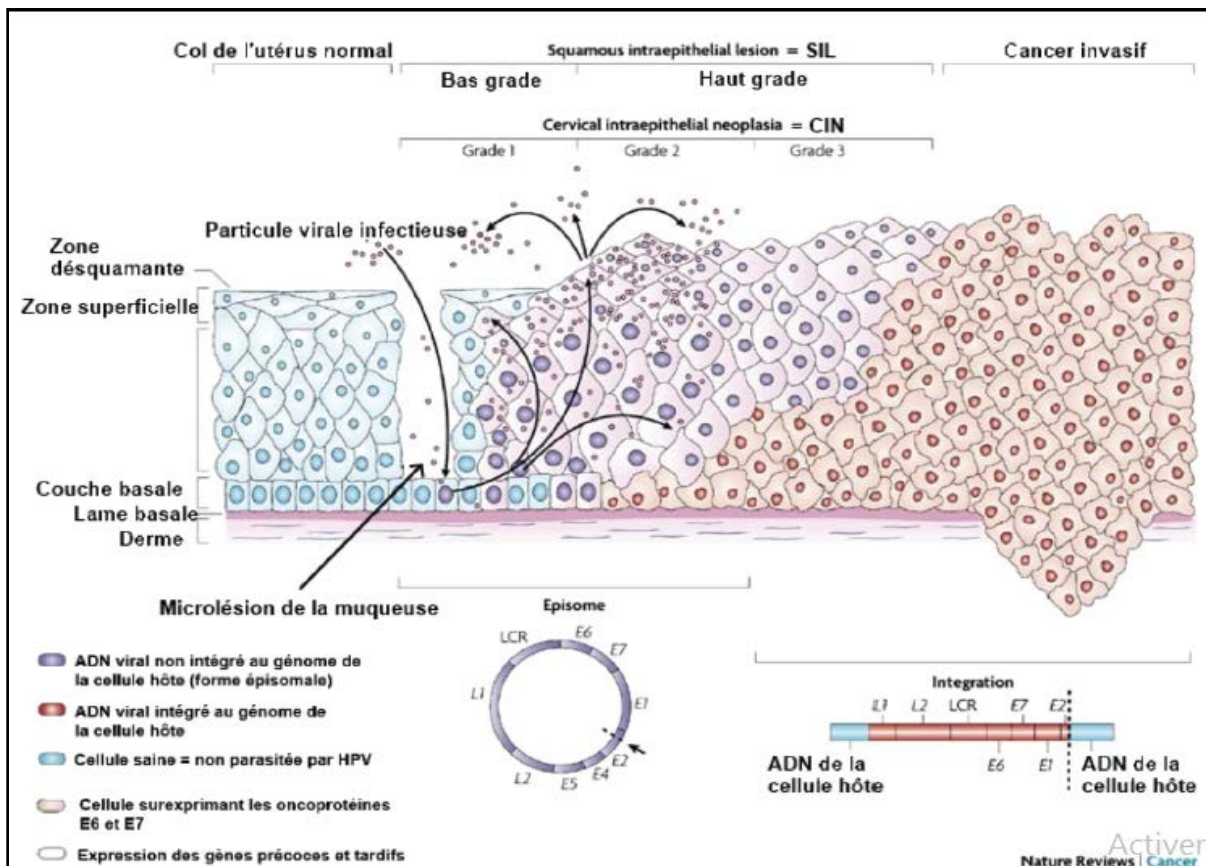


Figure 13. Relation entre le cycle viral et la classification des lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus.

(S.beaudin, 2015) [26]

Les deux dernières éditions du système Bethesda (2001 et 2014) comportent les catégories suivantes pour les lésions néoplasiques intra-épithéliales [80]:

- Des lésions malpighiennes :
 - Cellules malpighiennes atypiques de significations indéterminée (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance ASC-US) ou sans pouvoir exclure une lésion haut grade (Atypical Squamous Cells cannot exclude High grade Squamous Intraepithelial Lesion ASC-H)
 - Lésions malpighienne intra-épithéliales de bas grade (LSIL) : incluant HPV/dysplasie légère / CIN1 .
 - Lésions malpighiennes intra-épithéliales de haut grade (HSIL) : incluant dysplasie modérée et sévère, CIN2 et CIN3, CIS ou avec des éléments faisant suspecter une invasion.
- Des cellules glandulaires :
 - Atypiques: cellules endocervicales, cellules endométriales et cellules glandulaires (Atypical glandular cells AGC)
 - Atypiques en faveur d'une néoplasie : cellules endocervicales en faveur d'une néoplasie et cellules glandulaires en faveur d'une néoplasie ;
 - Adenocarcinome endocervicale *in situ*.

I.2.4 Classifications des tumeurs

I.2.4.1 Classification F.I.G.O

Elle est basée sur l'examen clinique. L'atteinte ganglionnaire est précisée à part [77] (Figure 14).

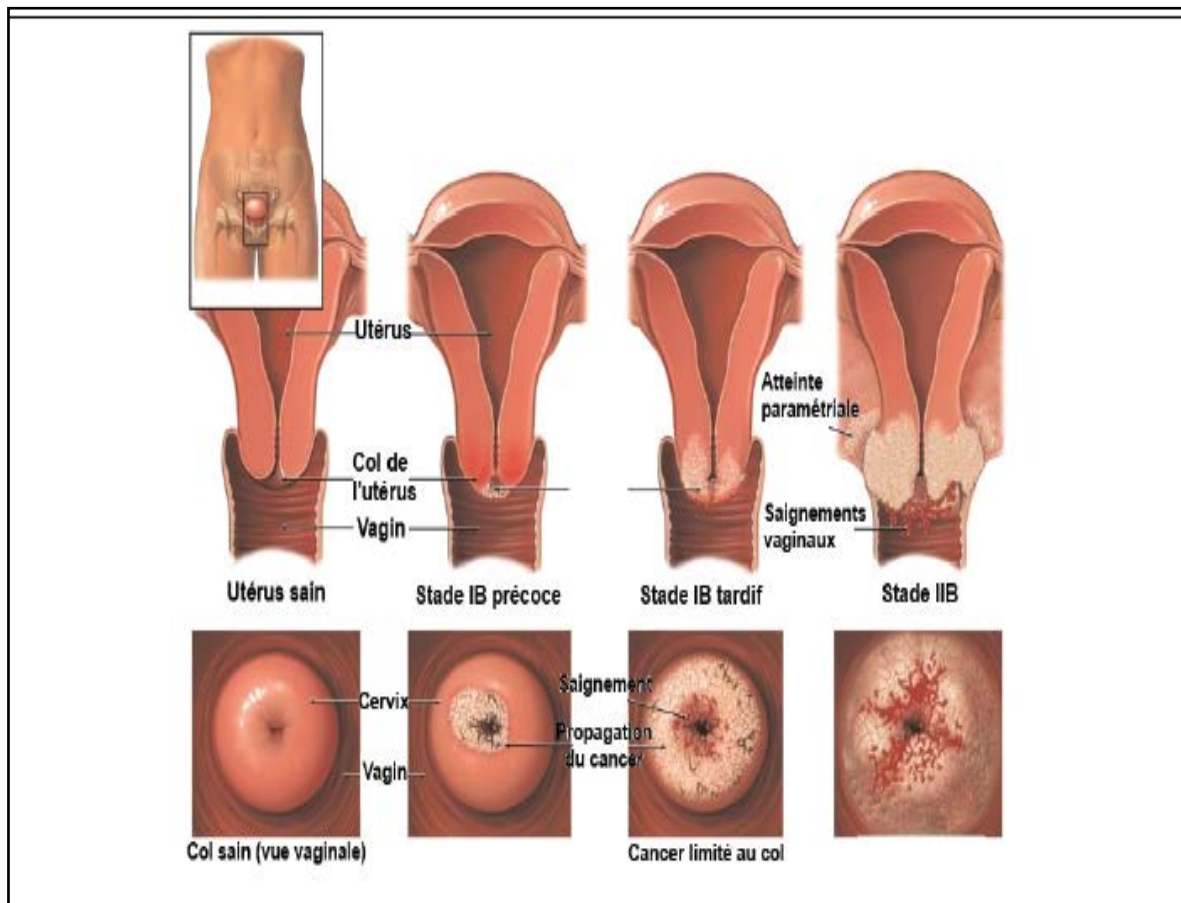


Figure 14. Illustration schématique de quelques stades de la classification FIGO pour les lésions (pré)cancéreuses du col de l'utérus en vue endovaginale et frontale (S.beaudin, 2015) [26]

I.2.4.2 Classification TNM de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC)

Une classification du stade est un code standard international par lequel les équipes de cancérologie décrivent l'extension d'un cancer. Le système TNM (T=Tumor, N=Node et M=Metastas) est le standard [77].

I.2.5 Epidémiologie des cancers du col de l'utérus

Selon l'étude de Parkin DM, les infections à HPV à haut risque oncogène (HPV-HR) sont responsables de 5,2 % de tous les cancers dans le monde, 2,2 % des cancers dans les pays développés et 7,7 % dans les pays en développement [81]. Le cancer du col survient après une période d'incubation silencieuse pendant plus de 10 à 20 ans [82]. Avec une prévalence mondiale estimée à 2,3 millions de femmes atteintes, une incidence annuelle mondiale

estimée à 569 847 nouveaux cas enregistrés et une mortalité estimée à 311 365 de cas de décès chaque année, le cancer du col de l'utérus occupe le quatrième rang mondial des cancers affectant la femme, en 2018 [2,83].

Il est bien établi que l'infection génitale persistante à papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR) est nécessaire pour le développement du cancer du col utérin [84]. Officiellement 222 génotypes HPV sont déterminés [2], environ 45 génotypes infectent les muqueuses anogénitales. Ils sont classés en HPV à haut risque HR-HPV et HPV à faible risque (HPV-LR), et d'autres qui ne sont pas encore classés. Quinze génotypes de HPV sont classés en tant que HPV-HR (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 et 82), trois types sont classés probablement de HPV-HR (26, 53 et 66), et douze en tant que types HPV-LR (6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, et CP6108) [85,86]. La prévalence de l'infection à HPV et la distribution des génotypes de HPV varie selon les régions géographiques et la gravité de la lésion cervicale [87,88].

Parce que seule l'infection persistante HPV-HR est insuffisante pour provoquer des lésions précancéreuses et les lésions cancéreuses au niveau du col utérin, on considère que d'autres facteurs sont nécessaires pour la progression vers des lésions de haut grade (HSIL) ou le cancer. Leur influence dans l'infection à HPV et le développement du cancer du col de l'utérus sont mal compris.

I.2.6 Facteurs de risque d'acquisition

Le facteur de risque obligatoire pour le développement des lésions précancéreuses et cancéreuses au niveau du col et le développement d'un adénocarcinome in situ est la présence d'une infection persistante à HPV à haut risque oncogène. Les génotypes de HPV haut risque peuvent influencer sur le risque oncogène. Effectivement, les génotypes HPV16 et HPV 18 sont les plus susceptibles de provoquer le cancer du col de l'utérus. L'infection à plusieurs HPV à haut risque est possible et elle est susceptible de favoriser l'échappement au système immunitaire [89, 90].

Toutefois, certains facteurs sont nécessaires pour la transformation cellulaire comme : l'âge de la femme, la multiparité, la contraception orale, le tabagisme, l'immunodépression, les

autres infections sexuellement transmissibles sans oublier les facteurs de risque liés aux IST tels que : plusieurs partenaires sexuels, début de l'activité sexuelle à un âge précoce [90, 91].

I.2.6.1 Age

L'âge des patientes modifie de façon évidente la durée du portage. Le pic de prévalence des HPV est observé chez les femmes jeunes de moins de 25 ans, puis le taux diminue progressivement avec l'âge. Mais, dans certains cas un léger pic réapparaît chez les femmes âgées de plus de 50 ans avec risque de persistance cela peut être la conséquence de l'immunosénescence due à l'âge [55,91].

I.2.6.2 Tabagisme

Une méta-analyse a montré que les femmes exposées au tabagisme actif présentaient un risque relatif de 1,6 en comparaison avec les femmes non exposées [55,92]. Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) le risque relatif est de 1.83 [55,93].

I.2.6.3 Contraception orale

Smith et al reportent une revue de littérature de 26 études réunissant au total plus de 12500 femmes atteintes d'un cancer du col de l'utérus montre une augmentation du risque de cancer invasif chez les femmes ayant choisis ou pas la contraception orale. Ce risque augmente avec la durée d'utilisation de 10% pour une utilisation de moins de 5 ans, de 60% pour une utilisation de 5 à 9 ans, et de 100% pour une utilisation de plus de 10 ans [55,94].

I.2.6.4 Multiparité

Selon Munoz et al, le risque est 4 fois plus élevé chez les femmes avec sept grossesses à terme que chez les nullipares et le risque augmente linéairement avec le nombre de grossesses [55,95].

L'âge à la première grossesse peut aussi être considéré comme un facteur de risque. Ainsi plus la grossesse a lieu à un âge jeune, plus le risque est élevé [55,96].

Le changement hormonal lié à la grossesse ou le traumatisme cervical lié à l'accouchement (provoquant les microlésions au niveau PVC) pourraient être des causes possibles [55,97].

I.2.6.5 Statut immunitaire

L'immunodéficience, qu'elle soit innée ou acquise (VIH, traitement anti rejet de greffe), est impliquée dans l'évolution maligne de l'infection à HPV.

Selon les études, le risque de cancer du col chez les patients VIH positifs est environ dix fois plus élevé que dans la population générale [55,98]. La prévalence de l'infection à HPV est plus élevée chez les femmes infectées par le VIH ainsi que le risque d'être infecté par un HPV à haut risque oncogène et le risque d'avoir une infection avec plusieurs HPV à haut risque est aussi élevé [55,99].

En 2016, dans l'Ouest algérie, Masdoua et al, ont trouvé que la fréquence des infections à HPV était significativement plus élevée chez les patientes séropositives au VIH-1 et que le taux des infections avec plusieurs génotypes HPV étaient plus élevées chez les patientes séropositives au VIH-1 que les patientes séronégatives (58,3% et 23,5%, respectivement) [100].

I.2.6.6 Coinfection à d'autres maladies sexuellement transmissibles

Smith et al, Anttilia et al ont montré que chez les femmes porteuses de HPV, la présence d'anticorps contre les *Chlamydiaes* était associée à un risque de cancer du col de l'utérus deux fois plus important que chez les femmes n'ayant pas ces anticorps [55,101,102].

Smith et al, Perez et al ont montré qu'une infection à *herpès simplex* de type 2 multiplie le risque de cancer cervical invasif par 3 [55,103,104].

I.2.7 Dépistage et diagnostic du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est un bon candidat au dépistage. En effet, il constitue une menace évitable pour la santé publique, l'histoire de la maladie est bien connue et passe par plusieurs stades précancéreux dépistables, il existe des tests de dépistage acceptables par la population et des tests de diagnostic ainsi que différentes stratégies de traitement disponibles [105].

La prévalence du cancer cervical à travers le monde est étroitement liée à l'existence d'une politique de dépistage des lésions précancéreuses dans la région considérée. En Finlande où le dépistage est organisé, l'incidence est de 4.4/100 000, alors que dans les pays où il n'existe

pas de dépistage, comme en Inde ou en Colombie, l'incidence est respectivement de 99/100 000 et 77/100 000 [77].

L'efficacité du dépistage dépend de plusieurs facteurs, d'abord la fiabilité de la méthode et du test de dépistage utilisés ensuite de l'impact de ce dépistage sur la population et c'est le facteur le plus important car si le dépistage n'est pas élargi il ne sera pas efficace.

Un bon test de dépistage doit être précis, reproductible, bon marché, facile à réaliser et à interpréter, acceptable et sans danger.

I.7.1 Les symptômes

Les cancers du col de l'utérus sont généralement asymptomatiques et sont découverts, le plus souvent, suite à un dépistage habituel par FCU [77].

Les cancers *in situ* sont totalement asymptomatiques. Les cancers micro-invasifs peuvent également être asymptomatiques. Cependant, ils peuvent parfois entraîner des symptômes qui pousseront la patiente à consulter [77].

Ces symptômes peuvent être :

- Une métrorragie provoquée, post-coïtale
- Une métrorragie spontanée, survenant en dehors de la période des règles,
- Une leucorrhée,
- Une dyspareunie, douleur lors des rapports sexuels,
- Et dans les formes plus avancées, on peut observer des douleurs, une difficulté à uriner ou de faux besoins d'aller à la selle [77].

La prévention du cancer du col repose sur le traitement des dysplasies (CIN 1, CIN 2, CIN3). En effet, le cancer du col utérin est une maladie qui se traite relativement bien, avec une survie relative à cinq ans de 76 %. Environ 0,3 % des femmes en activité génitale sont porteuses de dysplasies [77,106].

Le diagnostic est porté, avec une fiabilité à 95 %, par le trépied frottis-colposcopie-biopsie.

Le diagnostic est histologique, le prélèvement est réalisé par biopsie qui est elle-même guidée par un bilan colposcopique proposé après les résultats d'une cytologie évocatrice. La cytologie (FCU) est essentielle.

I.2.7.2 Le trépied frottis-colposcopie-biopsie

I.2.7.2.1 Cytologie ou étude du frottis cervico-utérin

L'étude du frottis cervico-utérin FCU repose sur l'observation cytologique sous microscope optique de deux lame issues d'un frottis effect contenant des cellules prélevées au niveau de la jonction pavimento-cylindrique [107]. Ce test de dépistage permet de suivre l'évolution des lésions précancéreuses du col utérin.

Le FCU permet de détecter les cellules pathognomoniques de l'infection à HPV les koïlocyte. Le FCU est insuffisant, il ne permet pas de préciser le degré de gravité de la dysplasie ainsi que sa localisation [108].

I.2.7.2.2 Colposcopie

La coploscopie à un examen à la loupe binoculaire de la muqueuse génitale et du stroma sous-jacent. Elle permet de localiser d'éventuelles lésions, de diriger la biopsie et d'assurer un traitement local adapté et complet [109].

I.2.7.2.3 Histologie

La biopsie permet de faire le diagnostic de certitude [109].

I.3 RECHERCHE DU PAPILLOMAVIRUS HUMAIN AU LABORATOIRE DE VIROLOGIE

L'ADN de HPV à haut risque oncogénique est présent dans 100% des biopsies des cancers du col de l'utérus cela rend légitime la recherche de l'ADN viral dans le cadre de dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses. Compte tenu du fait que les HPV soient des virus non cultivables et que la sérologie les concernant est très limitée et ne permet pas de faire la différence entre une infection passée ou récente, le diagnostic d'une infection par HPV est basée sur la détection de leur acide nucléique à partir de différents échantillons pathologiques [110].

I.3.1 Prélèvements

La recherche de l'ADN ou de l'ARNm viral s'effectue sur des prélèvements génitaux notamment le prélèvement au niveau de la jonction pavimento-cylindrique du col utérin grâce à une cytobrosse. Ce prélèvement nécessite une visite médicale et la présence d'un personnel qualifié.

Il est également possible d'effectuer un auto-prélèvement vaginal par la patiente. Cette méthode est utilisée en Europe, Australie et aux USA pour faciliter l'accès au dépistage du cancer du col. La patiente recueille elle-même ses sécrétions vaginales à l'aide d'un écouvillon spécifique qui sera introduit dans le milieu de transport dédié à la réalisation d'un test HPV. L'ensemble sera ensuite placé dans une enveloppe fournie pour être envoyé par voie postal au laboratoire d'analyses médicales qui effectuera le test HPV [111]. Selon les études, différents dispositifs d'autoprélèvement ont été proposés, avec par ordre de fréquence : des brosses (Viba Brush[®], Evalyn[®]Brush), des écouvillons (FLOQSwabs[™]) secs ou en milieu liquide, un système de lavage vaginal (DelphiScreener[®]) ou des tampons [112].

La mise en évidence de l'ADN ou l'ARNm viral est réalisée aussi sur un prélèvement tissulaire de col (biopsie ou pièce opératoire), frais ou fixé et inclus en paraffine.

Des travaux récents démontrent que la recherche génomique de HPV au niveau des urines est productive. Effectivement, Maged et al, ont prouvé que la recherche le HPV-HR dans les urines à une bonne valeur prédictive positive pour trier les patientes avec des lésions précancéreuses et cancéreuses [113].

Martinelli et al, ont comparé les trois techniques de prélèvements : auto-prélèvement vaginal, prélèvement cervico-utérin et urine chez un échantillon de candidates pour une colposcopie en Italie. Le taux de positivité des HPV était de 72% pour le prélèvement cervico-utérin, 75% pour l'auto-prélèvement vaginal et 77% pour le prélèvement Urinaire [114].

I.3.2 Microscopie électronique

Le HPV est un virus non cultivable. Il est cependant possible de visualiser les virions dans les tissus grâce à la microscopie électronique. Mais elle ne peut reconnaître les différents types viraux et nécessite la présence d'une importante réplication virale [110].

I.3.3 Biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire utilisées pour la recherche de l'HPV permettent soit de détecter la présence des HPV sans spécifier les types et ce sont les techniques de dépistage soit de détecter les différents types HPV et ce sont les techniques de génotypage. Les

principes des techniques sont basés sur une hybridation, une hybridation avec amplification de signal ou une amplification de cible (PCR) suivie d’une révélation d’amplicons.

Les méthodes de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) se sont imposées depuis plus de quinze ans, à coté des méthodes d’hybridation. La PCR permet une amplification exponentielle de la séquence d’ADN cible, ce qui résout le problème de la faible quantité d’ADN viral présente dans les échantillons biologiques. Par ailleurs, c’est une technique sensible, rapide et partiellement ou complètement automatisable, adaptable à l’utilisation en diagnostic. Les amorces spécifiques d’un type HPV sont choisies de manière à amplifier spécifiquement et exclusivement le HPV cible [110].

La grande diversité des génotypes d’HPV a conduit au développement de systèmes d’amorces à large spectre, permettant l’amplification de nombreux génotypes HPV connus ou inconnus. Ces amorces doivent cibler une région très conservée parmi les différents génotypes HPV et qui n’est pas susceptible d’être délaîtée ou modifiée en cas d’intégration du génome viral au génome de la cellule hôte. La région L1 étant la région la plus conservée du génome viral et étant suffisamment éloignée de la région E2 (point de cassure le plus fréquent en cas d’intégration), plusieurs systèmes d’amorces à large spectre ont été dessinés dans cette région. Trois systèmes d’amorces sont disponibles pour la PCR des HPV : le système GP5/GP6 qui a été amélioré par une extension des amorces en 3’ devenant GP5+/GP6+, Le système MY09/MY11 comportant un couple d’amorces dégénérées, les systèmes PGMY09/PGMY11 (mélange de 5 amorces sens et 13 amorces anti-sens) ou SPF10 qui combinent plusieurs amorces sens et plusieurs amorces anti-sens ciblant la même région L1 du génome [115] (Tableau 6).

Tableau 6. Caractéristiques des différents systèmes d’amorces à large spectre disponibles pour l’amplification par PCR des HPV (V.Dalstein, 2007) [115].

Nom du système d’amorces	Zone cible du génome viral	Taille moyenne de l’amplicon
MY09/11 et PGMY09/11	L1	450 pb
Test Amplicor® (Roche Diagnostics)	L1	165 pb
GP5+/GP6+	L1	150 pb
SPF10	L1	65 pb

I.3.3.1 Détection des HPV sans spécifier les types

I.3.3.1.1 Hybridation en phase liquide

La spécificité de cette technique ancienne repose sur une étape d'hybridation en solution, c'est une immunocapture en phase liquide. L'ADN est extrait et l'hybridation en phase liquide est réalisée entre l'ADN viral cible dénaturé et un « cocktail » de sondes ARN complémentaires de 13 HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 68). Les hybrides ADN/ARN formés sont stables et, grâce à des anticorps polyclonaux antiduplex ADN/ARN fixés sur la paroi des puits, ils sont captés sur la paroi de la microplaque. Après capture des hybrides, un anticorps anti-duplex couplé à une phosphatase alcaline (PAL) réagit avec la partie libre des duplex. En présence d'un substrat chimioluminescent, la PAL déclenche une émission de lumière détectée par un luminomètre [110] (Figure 15). La sensibilité de cette technique est proche de celle de la PCR (*polymerase chain reaction*) [116] tout en étant une technique rapide, reproductible et applicable à de grandes séries.

Le rendu du résultat est qualitatif :

- test HR-HPV positif : présence d'HPV à haut risque oncogénique,
- test HR-HPV négatif : absence d'HPV à haut risque oncogénique.

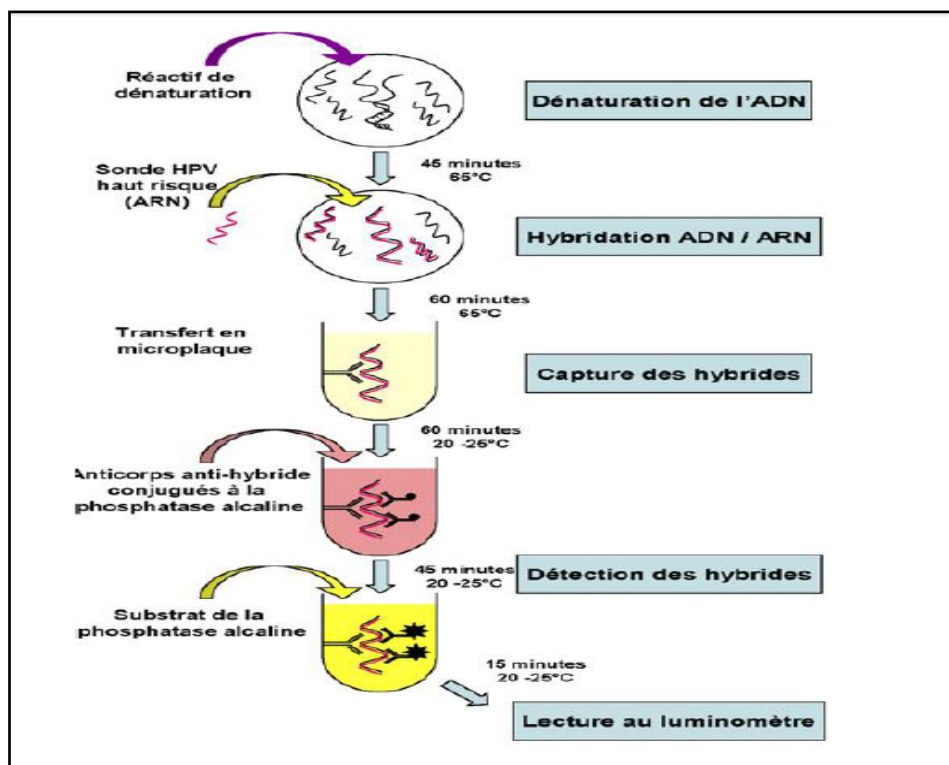


Figure 15. Principe de l'hybridation en phase liquide. (I.Ollier, 2008) [110]

I.3.3.1.2 Amplification par PCR couplée à une détection immunoenzymatique des amplicons

De nombreuses stratégies existent, toutes utilisent une étape d'amplification, puis une étape de révélation de ces amplicons grâce à une réaction colorimétrique [110,117]. Ainsi sont successivement réalisées : la lyse et l'extraction de l'ADN contenu dans les cellules cervicales, puis la PCR avec des amorces biotinyllées encadrant un fragment de la région L1 (Figure 16). Le choix de cette région L1 permet une PCR de genre amplifiant le fragment ADN quel que soit le génotype d'HPV. L'amplicon est ensuite dénaturé puis hybridé, dans un puits, avec un cocktail de sondes spécifiques et complémentaires des 13 HR-HPV. Les hybrides capturés dans les puits sont révélés par réaction colorimétrique grâce au groupement biotine présent sur l'amplicon. Le rendu du résultat est qualitatif : présence, ou absence, d'HPV à haut risque oncogénique dans le prélèvement. Dans la plupart des cas, une PCR contrôle qui amplifie une région d'un ADN cellulaire ubiquitaire est réalisée afin de valider la qualité du prélèvement et les conditions d'amplification et de révélation [110].

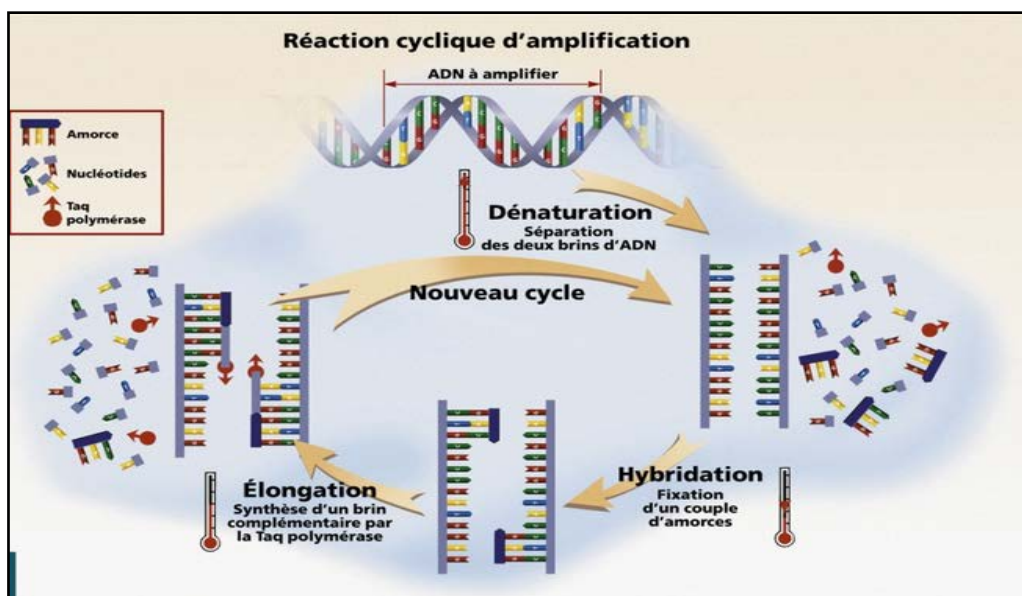


Figure 16. Les étapes de la PCR (I.Ollier, 2008) [110].

I.3.3.2 Génotypage des HR-HPV

Les techniques de génotypage identifient le (ou les) génotype(s) d'HPV présents dans l'échantillon analysé. Elles comportent une étape d'amplification PCR d'un fragment d'ADN

HPV. Le choix de la région amplifiée doit répondre à deux contraintes [110,118] : une séquence ADN suffisamment conservée à ses extrémités afin de permettre une PCR de genre, mais divergente dans sa région interne pour autoriser le géotypage par comparaison avec des séquences de géotypes connus. La réalisation d'une PCR contrôle, à partir d'un ADN cellulaire ubiquitaire, est utilisée pour valider la qualité du prélèvement et le bon déroulement des étapes d'amplification et de révélation.

I.3.3.2.1 Géotypage par séquençage

C'est la méthode de référence car il s'agit de l'amplification de la séquence complète de la région L1 qui définit les différents géotypes d'HPV. Cependant, en routine, le géotype est réalisé à partir d'une plus courte séquence, celle des amplicons : région variable suivant le type qui sera alignée avec des séquences de référence des différents géotypes d'HPV [110]. Cette méthode permet de détecter le géotype d'HPV majoritaire, présent dans le prélèvement, mais peut difficilement diagnostiquer les infections multiples. En revanche, elle permet de détecter des variants d'HPV (pour les HPV 16 et 18 principalement) [110].

I.3.3.2.2 Géotypage par sondes immobilisées sur bandelettes

Dans cette technique, c'est lors de l'étape de l'hybridation que l'on différencie les divers géotypes présents. Après une étape d'amplification réalisée avec des amorces biotinylées. Les produits amplifiés sont hybridés sur une bandelette sur laquelle des oligonucléotides spécifiques de différents géotypes d'HPV ont été préalablement fixés. Les hybrides amplicon oligonucléotide sont révélés par réaction colorimétrique grâce au groupement biotine présent sur l'amplicon [110,119].

La lecture s'effectue ensuite, par comparaison entre le profil d'hybridation obtenu et une plaquette où figurent les profils de tous les géotypes d'HPV. La localisation de la bande (ou des bandes) colorée(s) sur la bandelette permet de définir le (ou les) géotype(s) présent(s) dans le prélèvement (Figure 17). Ces techniques portent le nom de *line blot assay*, *line probe assay* (LiPA) ou de *linear array assay*. La sensibilité de ces tests permet la détection simultanée de plusieurs géotypes d'HPV [110,119].

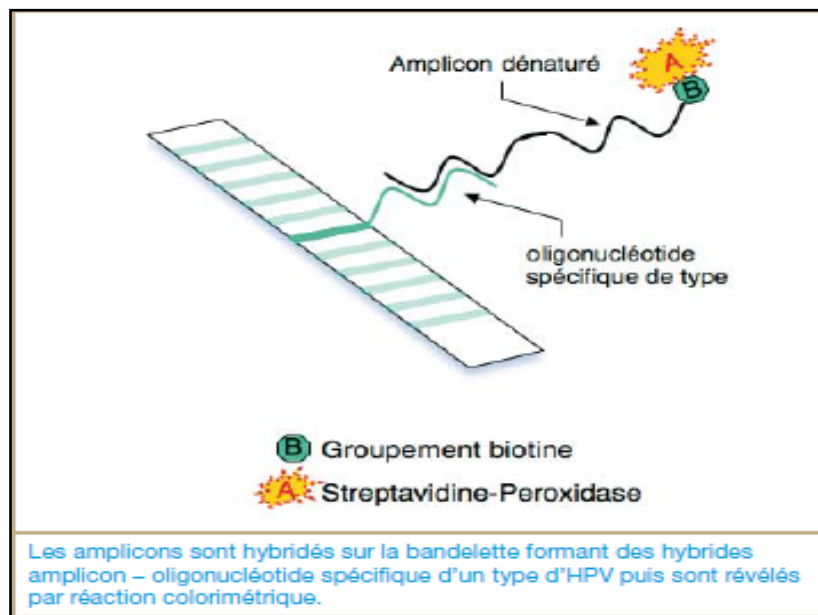


Figure 17. Génotype par reverse dot-blot (I.Ollier, 2008) [110].

I.3.3.2.3 Génotypage par puce à ADN

Cette technique permet un génotypage rapide [120]. La PCR de genre est réalisée avec des amorces fluorescentes, puis le produit PCR est hybridé sur une lame. Cette lame contient les sondes spécifiques des génotypes d'HPV recherchés déposées sous forme de spots bien distincts. Les puces applicables au diagnostic sont des puces de basse densité, avec 5 à 100 sondes différentes par lame. Le produit PCR étant fluorescent aucune étape de révélation n'est nécessaire et, après lavage de la lame, la lecture se fait directement sur un scanner qui localise l'hybride cible-sonde et en déduit le génotype. Cette technique est simple, sensible et rapide. Elle permet également de détecter les différents types dans les infections à HPV multiples [110].

I.3.3.2.4 Génotypage par la technologie Luminex®

La technologie Luminex® est une nouvelle technologie de cytométrie en flux permettant la détection de réactions multiples dans un même tube. Ce système multi-analytique est constitué d'un cytomètre de flux à 2 lasers et d'un ensemble de microsphères. Après amplification avec des amorces fluorescentes (PCR de genre), l'ADN amplifié est hybridé sur les microsphères recouvertes chacune d'un oligonucléotide spécifique d'un génotype d'HPV. Chaque type de microsphères est reconnaissable en cytométrie en flux par un code-couleur spécifique et l'amplicon est lui aussi marqué par un fluorophore. Il est donc possible, grâce à

cette technologie, d'analyser simultanément jusqu'à 100 types de microsphères par condition et donc d'analyser rapidement les différents types d'HPV-HR présents dans le prélèvement [110].

I.3.3.3 Détection quantitative du génome HPV

Ces techniques évaluent la charge virale d'un type précis d'HPV. La quantité de virus détecté dans les frottis pourrait être liée au grade de la lésion et donc être un facteur pronostique, mais les résultats sont parfois contradictoires [110]. L'arrivée de la PCR en temps réel permet de nombreuses études. Cette technique donne une quantification précise (nombre de copies d'ADN) par comparaison avec des standards internes. La détection et la quantification simultanées de l'ADN cible sont possibles grâce à la mesure « en temps réel » de l'émission de fluorescence [110,121].

L'intensité de cette fluorescence est proportionnelle à la quantité d'amplicons synthétisés et donc au nombre de cibles (génome HPV) présentes initialement dans le prélèvement.

L'analyse de la pente de la courbe de mesure de la fluorescence, au tout début de la phase exponentielle, permet la quantification de cet ADN par rapport à une gamme étalon [110,121]

I.3.3.4 Détection des ARNm HPV

Puisque les protéines oncogéniques E6 et E7 sont responsables de la carcinogenèse liée aux HPV à haut risque, la détection des ARNm E6-E7 peut être un marqueur intéressant pour apprécier le risque d'évolution vers une lésion cancéreuse. Dans la technique NASBA (*nucleic acid sequence based amplification*) [110], les ARNm viraux et cellulaires extraits des prélèvements cervicaux sont rétrotranscrits en ADN par la transcriptase inverse. L'une des deux amorces utilisées, produites à partir des régions E6 et E7, possède le promoteur de la T7-ARN polymérase et permet à cette T7-ARN polymérase de transcrire une centaine de copies d'ARN à partir d'une copie d'ADN, réalisant une amplification isotherme des ARNm. La détection de ces ARNm se fait par hybridation avec des sondes oligonucléotidiques fluorescentes spécifiques de type, permettant le génotypage [110].

I.3.4 Sérologie

L'étude des anticorps dirigés contre les protéines non structurales de HPV a été réalisée avec des protéines de fusion ou des peptides de synthèse. La faible sensibilité, l'absence de valeur

pronostique et la grande variabilité interlaboratoires ont fait rejeter leur utilisation en routine [122]. L'utilisation de pseudoparticules virales (VLP : *virus-like particles*) et leur expression des protéines de structure (L1 et L2) ont permis le développement des tests sensibles pour mesurer la réponse immune. La réponse anti-VLP semble largement spécifique de type malgré la présence de réactions croisées entre génotypes proches [123]. L'utilisation ensuite d'une batterie d'anticorps monoclonaux anti-VLP pour ces différents types a permis l'étude des épitopes neutralisants.

La cinétique d'apparition des anticorps anti-VLP a permis l'analyse de la réponse humorale dans différentes situations cliniques et en particulier chez des patientes porteuses d'un cancer du col utérin [122].

Les anticorps dirigés contre les HPV sont présents de manière inconstante, ce qui en limite l'intérêt pour le diagnostic d'une infection à HPV [122].

I.4 PLACE DU TEST HPV DANS LE DEPISTAGE DU CANCER DU COL DE L'UTERUS

I.4.1 Indications du Test HPV

L'association d'un test HPV au frottis est prometteuse mais un suivi concernant certains facteurs doit être établi comme une évaluation coût-bénéfice, des études comparatives, un algorithme de prise en charge, la mise en place d'un contrôle de qualité, la formation des professionnels et l'information des patientes [55,124].

On admet que l'absence d'HPV chez une femme qui présente des frottis avec atypies mineures est corrélée à 99,5 % à l'absence de lésion sous-jacente; la valeur prédictive négative du test HPV est donc une information déterminante pour totalement rassurer ces patientes sans besoin d'examens complémentaires [55]. A l'inverse, la présence d'HPV à risque est fortement corrélée à des lésions significatives du col utérin, puisque l'on admet que la sensibilité du test à reconnaître une CIN de haut grade est supérieure à 90 % [55]. Dans cette indication, le test HPV lève ainsi les ambiguïtés générées par la reproductibilité variable couramment observée sur les atypies mineures pour les techniques de frottis et de colposcopie. De plus, l'avantage majeur de cette possibilité est que la recherche de l'ADN peut se faire sans reconvoquer la patiente quand on utilise la cytologie en phase liquide [55].

Il n'existe pas, actuellement, de triage pour les frottis de type LSIL car la prévalence HPV

dans ce cadre est très forte (> 95 %) [55]. Cependant, un triage des frottis LSIL pourrait s'avérer intéressant chez des femmes de plus de 35-40 ans car le taux de positivité d'HPV à haut risque chuterait alors à environ 50 % et l'on pourrait donc parler de triage LSIL (comme pour les ASC-US) chez des femmes plus âgées. Dans ce cas, un frottis LSIL HPV négatif rassurerait les patientes et devrait entraîner un frottis répété dans trois ans [55].

I.4.1.1 Test HPV en dépistage primaire

Deux politiques de dépistage intégrant le test HPV en dépistage primaire ont été proposées :

Le dépistage dit combiné qui associe le FCU et le test HPV

Le test HPV en première intention avec un triage par FCU des tests viraux positifs

Ces politiques de dépistage permettraient d'allier la haute sensibilité du test HPV à la très bonne spécificité de la cytologie. Ainsi, la sensibilité du dépistage conventionnel par frottis augmente de 25 à 30%, ramenant la sensibilité de détection à près de 100% [55]. Le test HPV n'est pas envisagé seul à cause de sa faible spécificité ce qui pourrait entraîner des résultats positifs chez des femmes ne présentant pas de lésions [55,125].

I.4.1.1.1 Dépistage primaire combiné

Le dépistage primaire combiné est validé aux États-Unis par la FDA depuis 2003.

L'avantage de cette association du dépistage viral à la cytologie classique est qu'elle améliore encore la sensibilité qui devient proche de 100%. [55,126].

Vu le grand nombre d'infections transitoires chez les femmes jeunes, le test viral n'aurait donc un intérêt dans le dépistage primaire qu'à partir d'un certain âge, permettant par là de sélectionner les femmes présentant un portage persistant du virus et étant de ce fait à risque de cancer [55,126].

Certains auteurs démontrent l'efficacité du test viral à partir de 30 ans mais cette notion d'âge limite, en dessous duquel le test HPV ne sera pas utile, est remise en cause dans de nombreuses études dans lesquelles les classes d'âge de 25 (en considérant la précocité des rapports sexuels) à 65 ans pourraient bénéficier du test viral [55,126].

Pour d'autres auteurs, il y aurait intérêt à coupler le typage viral au frottis au delà de 35 ans, ce qui permettrait [55,126] :

- De réduire les faux négatifs du dépistage en réalisant une colposcopie chez les femmes frottis négatifs, HPV oncogène positif,

- De sélectionner une population à haut risque ; femmes frottis négatif, HPV oncogène positif et colposcopie normale, où le dépistage devrait être poursuivi de façon rapprochée,
- De sélectionner une population à bas risque : frottis normal, HPV oncogène négatif où le dépistage pourrait être considérablement espacé et, arrêté à partir de 65 ans.

L'association d'un test HPV et d'un FCU n'est sans doute pas la solution la plus économique dans les programmes de dépistage [55,127].

Cependant, si les deux tests employés augmentent le coût au départ, l'excellente valeur prédictive d'un test HPV négatif (c'est à dire la forte probabilité que HPV ne soit pas présent lorsque le test est négatif) peut permettre d'espacer l'intervalle de dépistage pour les femmes présentant des frottis normaux HPV négatifs, car leur risque de développer une CIN3 est moindre que celui des femmes à frottis normaux sans statut HPV connu. Des intervalles de dépistage sécuritaires de 3 à 5 ans sont les plus fréquemment proposés mais sont encore discutés. Ces intervalles amélioreraient le coût/efficacité de ce protocole de dépistage [55, 126,127].

I.4.1.1.2 Test HPV puis triage par frottis

Cette méthode va utiliser un test plus sensible dans le cadre de dépistage primaire puis sélectionner les patientes positives par la réalisation d'un test plus spécifique. Ainsi, le test HPV étant très sensible, il permettrait de sélectionner toutes les patientes porteuses d'HPV alors considérées comme patientes à risque. Par la suite, le triage des cas positifs par un FCU permettrait d'éviter la colposcopie aux patientes ne présentant pas de lésions ce qui améliorerait le manque de spécificité du test HPV [55,128].

L'emploi de la cytologie en milieu liquide pour la réalisation d'un test HPV, permet alors la réalisation secondaire du test cytologique chez les femmes ayant un test HPV à haut risque positif, sans reconvoction des patientes. L'âge du début de dépistage HPV est proposé à environ 10 ans après les premiers rapports sexuels pour un coût/efficacité optimum [55,128].

En pratique, les patientes HPV à haut risque positives à frottis anormaux seraient adressées en colposcopie et celles à frottis normaux suivies par FCU (Figure 18) [55,129].

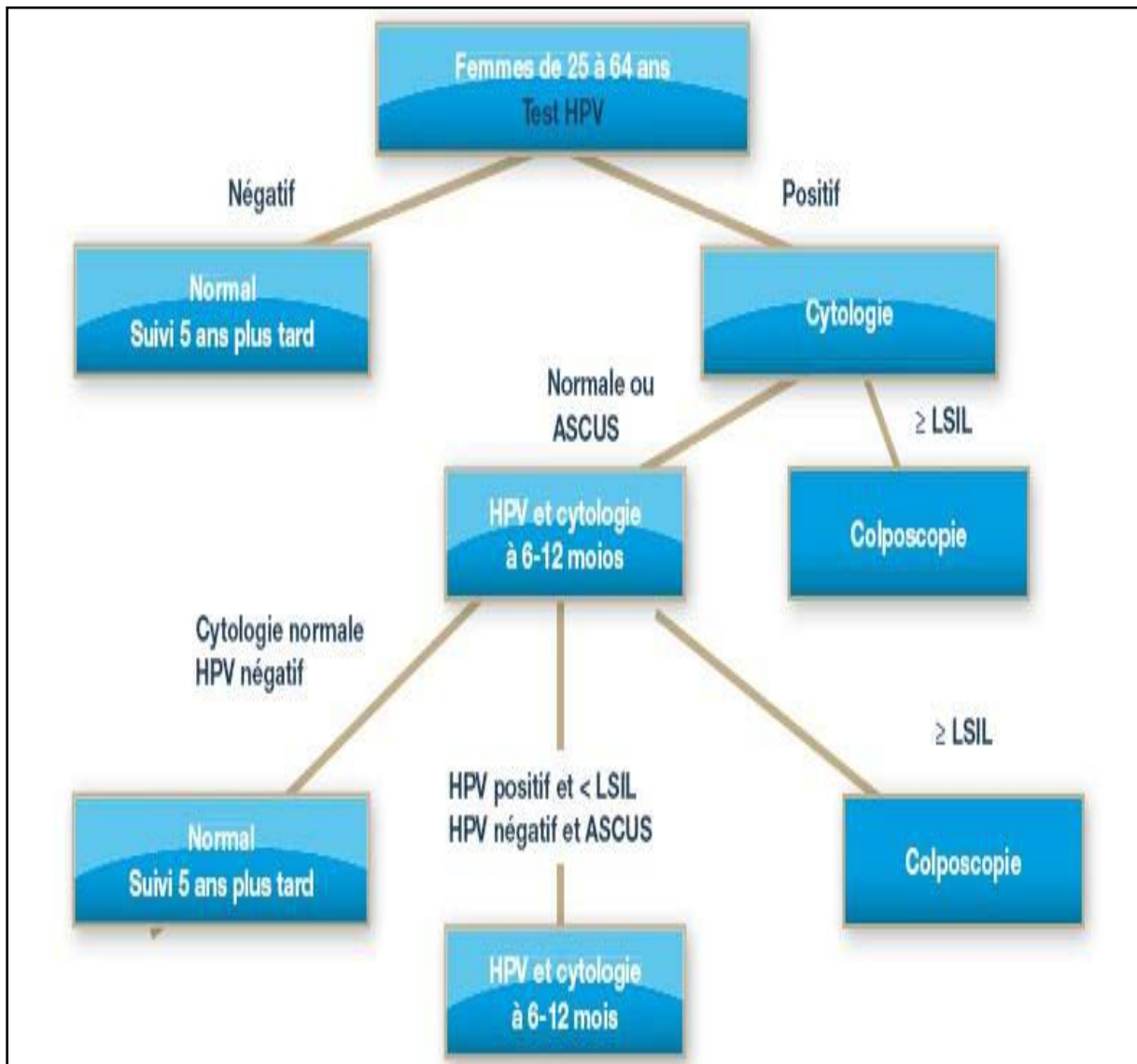


Figure 18. Proposition d’algorithme pour un test HPV de première intention en dépistage primaire, suivi d’un frottis de seconde intention chez les femmes HPV positives. (Cuzick J, 2003) [129].

1.4.1.2 Suivi post-thérapeutique CIN2 ou 3

Le Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français (CNGOF) recommande le test HPV pour le suivi post-thérapeutique des CIN 2-3 [55,130].

Les recommandations des experts internationaux proposent un test HPV à 6 mois environ après conisation (ablation chirurgicale d’une portion du col utérin). Un test HPV à haut risque négatif à 6 mois après le traitement permet donc à la patiente de retourner à un protocole de dépistage classique (Figure 19) [55,130].

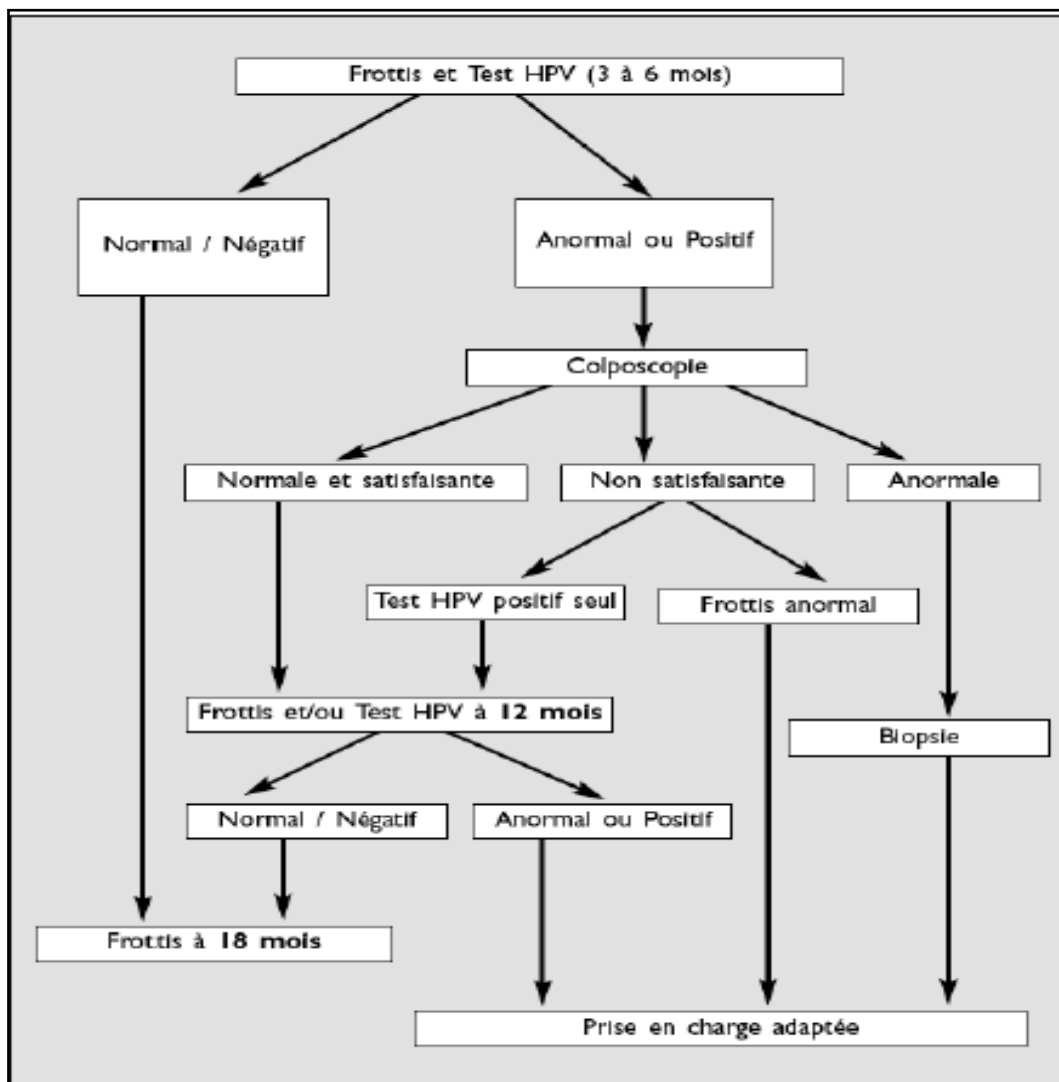


Figure 19. Conduite à tenir après le traitement d'un CIN2+ (J.Mergui, 2008) [130].

I.4.2 Intérêts et limites des tests

La sensibilité des tests actuels de détection des HPV pour dépister les CIN varie entre 85-95 % pour les deux tests d'amplification et d'hybridation. La valeur prédictive négative est de 92,2 % à 100 % (PCR) et de 94 % à 100 % (Hybridation). Ainsi, une femme ayant un résultat négatif a un risque quasi nul de développer un cancer du col de l'utérus dans les années suivantes [131].

Phillips et al ont réalisé une étude comparative entre les kits Roche Cobas® 4800 HPV assay, Digene Hybrid Capture 2, Roche Linear Array et Roche Amplicor pour la détection des génotypes HPV-HR chez les femmes traitées pour des lésions cervicales et cette étude a montré une corrélation entre la positivité du HPV-HR et le diagnostic histologique de haut

grade était 90,6% par les Cobas 4800, 86,1% par Hybrid Capture 2 (hc2), 92,9% par HPV AmpliCor et 91,8% par Roche Linear Array. Ainsi, Le test Cobas 4800 est comparable aux tests HPV AmpliCor et Roche Linear Array et il est meilleur que le test hybride capture 2 dans la détection du HPV-HR chez les femmes traitées pour dysplasie cervicale [132]. Une autre étude de Cuzick et al qui évalue la sensibilité du test Xpert HPV dans le dépistage des HPV-HR chez les femmes a montré que le test Xpert, Cobas et hc2 avaient une sensibilité similaire (98,7%, 97,5%, 98,7%, respectivement) pour CIN2+ [133].

De nouveaux tests utilisent des amorces ciblant les régions E6/7 bien préservées dans les lésions de CIN2+, ont vu le jour mais les potentiels faux négatifs, engendrés par ces techniques, demeurent peu connus [134].

Afin de vérifier le potentiel faux négatif engendré par ces nouvelles techniques, J.C.Noel et al ont testé la sensibilité du test BD onclarity HPV assay dans une série de 123 lésions (ASC-H et HSIL) et avec des lésions de CIN2+, P16 positives démontrées lors de l'examen histologique. Les résultats montrent que 119/123 des lésions de CIN2+ étaient positives avec ce test, 4 lésions de CIN2+ étaient négatives (sensibilité=96.7%), et ce, malgré un contrôle interne β -globine positif [134].

La majorité des tests HPV sont robustes et fiables mais leur sensibilité n'est pas absolue et peuvent engendrés des faux négatifs, dans 4% des cas selon Dubbling et al [135]. D'autres études rapportent des résultats similaires : 4 à 11% de faux négatifs dans l'étude ARTISTIC trial avec la technique HybridCapture II et 12% de faux négatifs dans l'étude ATHENA avec la technique Cobas 4800 [136, 137].

La spécificité du test HPV est en général moindre que celle de la cytologie. Le manque de spécificité est important à prendre en considération car cela peut conduire à un nombre important de femmes sans lésions qui auront un test HPV positif et donc à des sur-diagnostics et des traitements inutiles chez des femmes jeunes.

Contrairement au FCU, ces techniques biologiques ne sont que peu dépendantes du site de prélèvement au niveau du tractus génital et également peu dépendantes du préleveur puisqu'il existe des auto-prélèvements qui sont presque aussi efficaces.

I.4.3 Critères de choix du test HPV

Le test HPV peut être utilisé comme un moyen de dépistage primaire seul ou combiné avec le FCU. Les recommandations américaines 2018 publiées dans le JAMA (*Journal of the American Medical Association*) préconisent le dépistage du cancer du col utérin [138] :

- Tous les 3 ans avec cytologie cervicale seule chez les femmes âgées de 21 à 29 ans
- Tous les 5 ans avec Test HPV-HR seul ou tous les 5 ans avec le test combiné du HPV-HR cytologie (co-tests) chez les femmes âgées de 30 à 65 ans
- Contre le dépistage du cancer du col utérin chez les femmes de moins de 21 ans.

En 2017, 246 tests HPV sont commercialisés mais seuls 30.1% sont validés par des études cliniques et analytiques publiées. Pour qu'un test HPV soit utilisé comme outil de dépistage il doit être approuvé par la FDA (US Food and Drug Administration) et validé par des guidelines internationaux (critères de Meijer, Valgent 1-4) et les Comparaisons académiques multi-tests (PREDICTORS 3) [139] :

Les tests proposés pour le dépistage combiné : (chaque 5 ans, ≥ 30 ans) :

- Hybrid Capture 2 (hc2) HPV DNA Test (Qiagen)
- Cervista HPV HR Test + Cervista HPV 16/18 Test (Hologic)
- APTIMA HPV Assay + APTIMA HPV 16 18/45 genotype assay (Hologic)
- Cobas 4800 HPV Test (Roche)
- BD Onclarity HPV assay (BD)

Les Tests proposés pour le dépistage par la recherche HPV seulement (chaque 3 ans, ≥ 30 ans) :

- Cobas 4800 HPV Test (Roche)
- BD Onclarity HPV assay (BD)

Abryn et al publient la liste des tests HPV validés pour le dépistage primaire du cancer du col utérin [140] :

- Hybrid Capture 2 (hc2) HPV DNA Test (Qiagen)
- EIA kit HPV GP HR (Labo Bio-medical Products)
- cobas 4800 HPV Test (Roche)
- APTIMA HPV Assay (Hologic)
- Cervista HPV HR Test (Hologic)
- RealTime High Risk HPV test (Abbott)

- PapilloCheck HPV-screening test (Greiner Bio-One)
- Real-time quantitative PCR (qPCR) assay, ciblant les gènes E6 and E7 (Riatol - Belgian private lab)
- HPV-Risk assay (Self-Screen)
- BD Onclarity HPV Assay (Becton Dickinson)
- LMNX genotyping kit HPV GP HR (Labo Bio-medical Products) - previous digene HPV Genotyping LQ Test
- Anyplex II HPV HR (Seegene)
- Xpert HPV (Cepheid)
- EUROArray HPV Test (EuroImmun)
- Linear Array HPV Genotyping Test (Roche)- limités que pour 13 HPV-HR types ;

Ainsi que la liste des tests HPV avec des études analytiques longitudinale de plus de 36 mois :

- Hybrid Capture 2 (hc2) HPV DNA Test (Qiagen)
- EIA kit HPV GP GP5+/6+ HR
- Cobas 4800 HPV Test (Roche)
- RealTime High Risk HPV test (Abbott)
- APTIMA HPV Assay (Hologic, Gen-Probe)

I.4.4 Interprétation des tests HPV

La conduite à tenir devant le résultat d'un Test HPV selon les guidelines européens est la suivante [141] :

- L'intervalle de dépistage pour les femmes avec un test primaire HPV négatif doit être d'au moins 5 ans et peut être prolongé jusqu'à 10 ans en fonction de l'âge et de l'historique de dépistage.
- Les femmes dont le test HPV-HR était positif lors du dépistage primaire devraient être testées sans délai pour la cytologie cervicale (trilage cytologique).
- La référence directe à la colposcopie de toutes les femmes positives au HPV n'est pas recommandée.
- Le test cytologique doit utiliser de préférence le spécimen recueilli au cours du test HPV.
- Les femmes qui ont une cytologie négative avec un test HPV positif doit être suivi par

une nouvelle analyse après un intervalle plus court que l'intervalle de dépistage régulier, mais après au moins 6 à 12 mois.

I.5 VACCINATION ANTI-PAPILLOMAVIRUS

I.5.1 Approche vaccinale

L'idée d'utiliser un vaccin pour prévenir l'apparition du cancer du col date des années 1980 lorsqu'il a pu être mis en évidence le lien entre l'infection à HPV et le cancer du col. Sa concrétisation n'a pu voir le jour que dans les années 1990 avec la découverte du phénomène d'auto-assemblage spontané de pseudo-virions ou Virus Like Particules (VLP) de la protéine L1. Ces VLP L1 sont dépourvues de tout matériel génétique potentiellement infectieux ou oncogène et présentent une morphologie très voisine de celle du virus natif [142].

Près de 80% des cancers sont induits par 4 types de HPV à haut risque (16, 18, 31, 45) et à lui seul HPV 16 serait à l'origine de 50% des tumeurs. Ainsi un vaccin préventif dirigé contre ces types de HPV aurait un taux de couverture de plus de 80% des HPV impliqués dans le cancer du col [142]. Cependant, ce taux de couverture globale peut varier en fonction de la distribution géographique des génotypes à haut risque. Sachant que les HPV 16 et 18 sont les plus fréquemment retrouvés quelle que soit la zone géographique considérée, les autres génotypes à haut risque les plus courants (31, 33, 45, 52, 58) se répartissent inégalement selon les régions, avec une prédominance du génotype 31 en Amérique centrale et du sud, du génotype 33 en Europe et en Amérique du nord, du génotype 45 en Asie et en Afrique [143].

I.5.2 Principe général de la vaccination

Le principe de la vaccination anti-Papillomavirus est basé sur l'induction de la synthèse d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine de capsidie la plus conservée du HPV L1. Pour une réaction optimale, Ces anticorps doivent être présents au niveau de la muqueuse et des sécrétions du col utérin avant la première exposition au virus soit avant le début de l'activité sexuelle.

Le vaccin anti-HPV est donc fondé sur l'utilisation de pseudoparticules virales (VLP) composé d'une protéine identique à la protéine L1 de HPV. Effectivement, les protéines L1 possèdent la propriété de s'auto-assembler en pseudoparticules lorsqu'elles sont produites en cellules eucaryotes et en grande quantité [77,144]. Ces VLP L1 possèdent une morphologie

quasi-identique à celle des virions natifs et sont capables de provoquer la synthèse de titres élevés d'anticorps neutralisants, protecteurs d'une infection à HPV [77,145].

La synthèse des VLP non infectieuses est réalisée par l'introduction du gène L1 dans différents systèmes eucaryotes : cellules d'insectes (infectées par des *Baculovirus*) ou des levures (*Saccharomyces cerevisiae*). Il est apparu que la coexpression de la protéine L2 permet d'augmenter la quantité de VLP assemblées (elle se co-assemble avec L1 dans la VLP), mais elle n'est pas indispensable pour rendre la VLP immunogène ni pour induire des anticorps neutralisants [77,146].

Le choix de VLP composées de protéines L1 s'est donc imposé, l'adjonction de la protéine L2 n'ayant pas montré un gain suffisant en termes d'efficacité vaccinale [77,147].

I.5.3 Vaccins disponibles

Actuellement, trois options vaccinales ont été choisies:

- Vaccin VLP recombinant nonavalent dirigé contre les HPV 6, 11, 16, 18, 31, 45, 52, 58, permet de protéger à la fois contre les lésions précancéreuses et cancer du col de l'utérus, de la vulve, du vagin et de l'anus (HPV 16, 18, 31, 45, 52, 58) et contre les condylomes acuminés (HPV 6 et 11, impliqués dans 90 % des condylomes).
- Vaccin VLP recombinant quadrivalent dirigé contre les HPV 6, 11, 16 et 18, permet de protéger à la fois contre le cancer du col de l'utérus (HPV 16 et 18) et contre les condylomes acuminés (HPV 6 et 11, impliqués dans 90 % des condylomes).
- Vaccin recombinant bivalent, dirigé uniquement contre les HPV 16 et 18, cible la protection contre le cancer du col utérin.

I.5.4 Recommandations vaccinales

A l'origine, les premières recommandations américaines du CDC et du comité consultatif sur les pratiques d'immunisation (ACIP) sur la vaccination contre HPV publiées en 2007 conseillaient une vaccination relativement tardive : elle concernait les jeunes filles de 14 ans, mais elle pouvait également être proposée en rattrapage aux jeunes femmes âgées entre 15 et 23 ans n'ayant pas eu de rapports sexuels. Fournir des vaccins avant le début de l'activité sexuelle et donc avant toute l'exposition à l'infection à HPV permettra une efficacité maximale [28,148, 149].

En 2014, le comité consultatif sur les pratiques d'immunisation (ACIP) recommande la vaccination systématique de toutes les filles âgées de 11 ans jusqu'à 12 ans avec le vaccin

bivalent ou quadrivalent [28,150,151]. L'Académie américaine de pédiatrie, l'Académie américaine des médecins de famille et l'American Collège des obstétriciens et gynécologues approuvent tous la recommandation de l'ACIP pour la vaccination systématique des jeunes filles, en particulier celles âgées de 11 et 12 ans, avant l'initiation de l'activité sexuelle [28,152, 153,154].

Selon les recommandations de l'OMS, aux Etats-Unis, la vaccination masculine est déjà mise en place, le vaccin quadrivalent et le vaccin bivalent sont recommandés pour les filles et garçons de 11-12 ans, ainsi qu'en rattrapage jusqu'à 26 ans [28,155].

Selon les recommandations de l'OMS publiées en 2017 [156], le schéma de vaccination contre HPV dépend de l'âge de la personne vaccinée. Les vaccins doivent être administrés par voie intramusculaire dans la région du deltoïde.

Pour le vaccin bivalent, chez les filles et les garçons de 9 à 14 ans, le schéma de vaccination à 2 doses (0,5 ml à 0 et 5-13 mois) est recommandé. Si l'âge au moment de la première dose est ≥ 15 ans, il est préconisé d'adopter un schéma à 3 doses (0,5 ml à 0, 1 et 6 mois).

Pour le vaccin quadrivalent, chez les filles et les garçons de 9 à 13 ans, ce vaccin peut être administré selon un schéma à 2 doses (0,5 ml à 0 et 6 mois). Il est aussi possible d'administrer ce vaccin selon un schéma à 3 doses (0,5 ml à 0, 2 et 6 mois). Chez les filles et les garçons de 14 ans ou plus, il convient d'administrer ce vaccin selon un schéma à 3 doses (0,5 ml à 0, 2 et 6 mois) [156, 157].

Pour le vaccin nonavalent, chez les filles et les garçons de 9 à 14 ans, un schéma de vaccination à 2 doses (0,5 ml à 0 et 5-13 mois) est recommandé. Il est possible d'administrer ce vaccin selon un schéma à 3 doses (0,5 ml à 0, 2 et 6 mois). Chez les sujets de 15 ans ou plus, le vaccin nonavalant doit être administré selon un schéma à 3 doses (0,5 ml à 0, 2 et 6 mois) [156,157, 158].

Une nouvelle campagne préventive initiée au Mexique nommée « HPV FASTER » qui combine la vaccination au dépistage (FCU + Test HPV) en une seule visite médicale. Le but de cette campagne est d'élargir la vaccination pour la femme adulte quelque soit le résultat du test HPV [159].

I.5.5 Efficacité de la vaccination contre HPV

L'efficacité de la vaccination a été démontrée dans de nombreuses études chez des jeunes filles n'ayant pas encore été en contact avec HPV. Une forte production d'anticorps dirigés contre les génotypes retrouvés dans le vaccin est mise en évidence à des taux élevés et persistants, avec une réaction croisée variable et faible avec des génotypes non exposés quel que soit le vaccin utilisé [28].

Warner K Huh et al ont entrepris une étude randomisée, à double aveugle, d'efficacité, d'immunogénicité et de tolérance sur le vaccin nonavalent et le vaccin quadrivalent sur 105 sites d'étude dans 18 pays. Le vaccin nonavalent et le vaccin quadrivalent avaient tous les deux un profil d'immunogénicité similaire vis-à-vis du HPV 6, 11, 16 et 18 [28,160]. L'efficacité du vaccin quadrivalent a été maintenue jusqu'à 6 ans [28,160].

Le centre national de référence français pour le HPV déclare que l'efficacité vaccinale est de 95,93% pour les vaccins quadrivalent contre les type 6, 11, 16 et 18 et 38, et de 7% contre les génotypes HPV à réactivité croisée 31, 33 et 45 [28,161].

Ces données sont conformes aux conclusions de l'Australie, où l'introduction du vaccin quadrivalent a diminué la prévalence de HPV 6, 11, 16, 18 de 37,6% à 6,5% chez les femmes de 18 à 24 ans [28,162].

Enfin, il a été montré que les vaccins ne sont pas efficaces chez les femmes ayant déjà une infection par un HPV16 et/ou 18 [28,163].

Aux USA et en se basant sur une comparaison des données du National Health and Nutrition Enquêtes, il a été constaté une diminution de la prévalence du HPV dans l'ère vaccinale par rapport à l'ère pré-vaccinale. Dans un échantillon de femmes âgées de 14 à 19 ans, la prévalence du HPV de type vaccinal, a diminué de plus de 50%, telle que mesurée sur une période de trois ans. La prévalence est passée de 11,5% (2003 à 2006) à 5,1% (2007 à 2010) [77,164].

Wheeler et al a étudié l'efficacité du vaccin quadrivalent pour prévenir les CIN (de tout grade) et les CIN 2/3 ou AI, d'après les données combinées d'efficacité de phase III (N=17 599) après un suivi médian de 3,7 ans chez des jeunes femmes âgées de 16 à 26 ans, séronégatives

pour les HPV 6, 11, 16 et 18, ADN négatives pour les 14 types d'HPV analysés et ayant reçu au moins une dose de vaccin [77,165]. L'étude a montré une efficacité statistiquement significative sur la prévention du cancer contre principalement le HPV 31 (efficacité : 55,6 %). En revanche, l'étude n'a pas été concluante en ce qui concerne les autres types [77,165].

Pour le vaccin bivalent, Poolman et al ont réalisé une étude de phase II à 4,5 ans de suivi a montré une protection significative du vaccin contre l'infection incidente par HPV 45 (IC 95 % :63,3-99,9%) et HPV 31 (IC95 % :11,5-77,7%) [77,166].

I.5.6 Rapport coût/bénéfice de la vaccination anti-HPV

Malgré le coût élevé du vaccin, le vaccin anti-HPV a le potentiel d'être extrêmement rentable. Le total direct des frais médicaux associés à la prévention, au diagnostic et au traitement des maladies liées aux HPV est d'environ 8 millions de dollars. Ceci n'inclut pas les coûts indirects [77,167]. Utilisation du vaccin pourrait aider à réduire les coûts totaux directs et indirects associée à une maladie liée au HPV en prévenant les infections primaires ainsi que le développement de lésions précancéreuses et le cancer [77,168].

Une estimation de l'impact coût/ bénéfice après 10 ans d'application d'une stratégie de lutte contre le cancer du col : 2017-2026 dans 50 pays à faible revenu est réalisée grâce à une simulation selon CERVIVAC model. Les objectifs de la stratégie sont : la vaccination des filles âgées de 10 ans avec deux doses du vaccin bivalent, le dépistage (Test HPV+FCU) pour femme à partir de 35 ans et la prise en charge thérapeutique des cancers du col. L'estimation du prix de la dose vaccinale a été revue à la baisse grâce aux associations GAVI alliance des vaccins (4.5 dollars la dose) et PAHO fondation (8.5 dollars la dose). Une couverture vaccinale de 10% par an est estimée pour atteindre les 100% dans 10 ans [169].

Cette stratégie pourrait prévenir 5.2 Million cas de cancers du col et éviter 3.7 Million de cas de décès. La vaccination aurait permis de prévenir 3.3 Million de cancer et d'éviter 2.4 Million de décès et 165 Million de filles seront vaccinées. Le coût de la vaccination et du dépistage par an serait de 664 Million de Dollars. La vaccination coûterait 1.93 Milliard de Dollars pour une couverture vaccinale de 10% par an et permettra d'économiser 237 Million de Dollars de traitement du cancer [169].

La balance coût/bénéfice a été appréciée par une enquête italienne après la mise en œuvre d'un programme préventif contre le cancer du col entre 2007-2016 à Apulia. A partir de 2008, le programme vaccinal inclus la vaccination des filles âgées de 12-18-25 ans et garçon de 12 ans à partir 2009. La couverture vaccinale était de 69.3% pour les filles et 52.8% pour les garçons. Le taux de dépistage est de 71%. Dix ans après cette stratégie, le taux des cancers ont baissé de 43.7/100000 à 21/100000, le coût de l'hospitalisation a baissé de 39% et l'âge moyen de l'hospitalisation a baissé. Le coût de la vaccination était de 34 million d'Euro, Une baisse du coût de 55.3% est observée en 2016 et le nombre de personnes vaccinées diminuait [170].

Malgré des preuves accablantes à l'appui de la sécurité et l'efficacité du vaccin contre le HPV, les taux de vaccination restent alarmants et bas aux États-Unis. En 2013, Stokley et al annoncent qu'un taux de 57,3% des adolescentes âgées de 13 à 17 ans ont initié les vaccins; ces filles ont reçu au moins une des trois doses dans la série. Seulement 47,7% des filles en ont reçu deux ou plus et 37,6% des adolescentes ont reçu les trois doses dans la série de vaccins [171]. De même, William et al ont trouvé qu'un taux de 34,5% des femmes âgées de 19 à 26 ans avec vaccination avec une ou plusieurs doses en 2012 [172]. Ces taux de couverture sont bien inférieurs à ceux de Healthy People 2020 objectif de 80% [173].

Et pourtant, aucune étude ne rapporte un lien entre la vaccination anti HPV et l'apparition de maladies auto-immunes. Les vaccins concernés sont le bivalent et le quadrivalent [174].

I.5.7 Acceptabilité du vaccin anti-Papillomavirus

Plusieurs études ont été effectuées sur la perception de l'infection à HPV et l'acceptabilité d'un vaccin dans différents pays.

Des enquêtes d'opinion ont été pratiquées lors de la mise en place d'un essai vaccinal en 2000 au Mexique [175] en Amérique latine [176], au Brésil [177], en Chine [178] ou en Finlande [179] ; et à titre exploratoire dans la perspective de la mise à disposition d'un vaccin aux USA [180]. En Europe une étude importante a été effectuée également en 2005 à Manchester par Brabin [181].

Ces enquêtes ont surtout interrogé les parents d'enfants de moins de 12 ans et tout particulièrement, parfois exclusivement [55,181] les mères de famille ; exceptionnellement les

jeunes filles et jeunes femmes sur l'intérêt du vaccin pour elles-mêmes et enfin des professionnels de santé [55,182].

Il existe 3 manières de présenter les infections à HPV, soit comme des agents du cancer du col, soit comme des agents d'une IST, soit comme une IST susceptible d'entraîner éventuellement un cancer du col [55, 183, 184, 185]. Suivant le mode de présentation, la perception des personnes interrogées n'est pas la même et la réponse attendue à une proposition vaccinale est différente.

Les réponses sont très favorables au vaccin lorsque les HPV sont présentés comme un facteur de cancer, soit environ 80 % de réponses favorables quelles que soient les régions, en Europe [179], aux USA [184] ou dans un pays latin (le Mexique) [175]. Mais il existe toujours des opposants systématiques aux vaccinations, avec les mêmes arguments intellectuels ou confessionnels quel que soit le vaccin proposé.

Même aux USA, lorsque les HPV sont présentés comme agents d'IST, cette notion est mal perçue. En conséquence, les parents pencheraient plutôt pour l'urgence de se vacciner contre le VIH ou même HSV que HPV [183]. L'opinion peut changer : à Manchester (UK), 80 % environ des parents sont *a priori* favorables aux vaccins mais 38 % seulement de manière définitive [181]. Inversement, certains parents sont opposés à le proposer à leurs enfants jeunes de crainte de favoriser une sexualité trop précoce [55].

Lorsque l'évolution de l'infection à HPV vers le cancer du col est expliquée, le choix d'adopter une démarche préventive est soutenu [55,186] : les jeunes femmes après l'explication sont particulièrement motivées pour demander une prévention. Cependant l'influence d'une information écrite sur la décision de souhaiter faire vacciner ses enfants est difficile à apprécier [55,187]. Pour se décider, les parents déclarent pouvoir être convaincus par des autorités morales ou faire confiance à des professionnels de santé [55].

Lo comme Zimet [186,188] soulignent que la mise en place de recommandations de vaccination contre l'HPV se heurtera à un contexte hostile aux vaccinations et insistent sur un apport d'informations nuancées, critiques et indépendantes, indispensable pour un choix éclairé.

II. OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

Les objectifs de notre étude sont :

Objectif principal

- Déterminer la prévalence des génotypes HPV à Haut risque oncogène chez les femmes de la région de Blida

Objectifs secondaires

- Connaitre la distribution des génotypes à Haut risque selon l'âge
- Connaitre la distribution des génotypes selon l'anomalie cytologique

III. PATIENTES ET METHODES

III. PATIENTES ET METHODES

III.1 Lieu de l'étude

Nous avons choisi la région de Blida qui est en fait, la Wilaya de Blida, notre ville d'exercice, pour étudier la prévalence des HPV oncogènes dans le cadre de lutte contre le cancer du col de l'utérus.

La Wilaya de Blida compte un Million deux cent mille habitants (Direction de santé de la Wilaya, 2018). Elle est divisée en 29 communes (Blida, Chebli, Bouinan, Oued Alleug, Ouled Yaiche, Chréa, El Affroun, Chiffa, Hammam Melouane, Benkhelil , Soumaa, Mouzaia, Souhane, Meftah, Ouled Slama, Boufarik, Larbaa, Oued Djer, Beni Tamou, Bouarfa, Beni Mered, Bougara, Guerouaou, Aïn Romana, Djebabra).

Le programme de lutte contre le cancer du col de l'utérus dans la ville de Blida est basé sur la réalisation des frottis cervico-utérins dans toutes les unités de Protection maternelle et infantile attachées aux établissements de santé publiques et dans l'unité de dépistage de cancer du col de l'utérus du service de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Blida.

Nous avons effectué notre étude au niveau :

- Des Polycliniques et salles de soin et Protection maternelle et infantile (PMI) de Blida attachées à l'Etablissement Publique de Santé de Proximité (EPSP) d'Ouled Yaiche (Polyclinique Bannanier , Polyclinique Ben Boulaid, Polyclinique Centre-ville, Polyclinique Ouled Yaiche, Polyclinique Aggoune Youcef, Polyclinique 1^{er} Mai, Polyclinique AADL, Polyclinique Bouarfa, Polyclinique Driouche, Polyclinique Sidi Yakoub, Polyclinique Beni Merad, Polyclinique Diar el Bahri, Salle Berzali, Salle Maramene, Salle Zabana, Salle Mimeche, Salle Badr, Salle 1240, Salle Ben Amor, Salle Khazrouna, Salle Krikti, Salle El-Aychi) (Tableau 7). Nous avons choisi l'Etablissement Publique de Santé de Proximité (EPSP) d'Ouled Yaiche car cet établissement reçoit les patientes venant des plus grandes communes de la Wilaya de Blida (Ouled Yaiche, Beni Merad, Bouarfa et Blida Centre) avec un nombre de consultantes élevées, plus de 32 000 consultantes par mois (Janvier-Fevrier2018).

- Unité de dépistage du Service de Gynécologie-Obstétrique, Unité Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida. Le Service de Gynécologie-Obstétrique assure la prise en charge des patientes de toute la Wilaya de Blida, ce qui justifie notre choix.
- Du Laboratoire de cytologie et d’anatomopathologie de la salle de soin Berzali-Etablissement Public de Santé de Proximité (EPSP) d’Ouled Yaiche.
- et Notre Collaborateur le Laboratoire de Papillomavirus, Herpesviridae et autres, Institut Pasteur d’Algérie - Sidi Fredj.

Tableau 7. Polycliniques et salles de Protection maternelle et infantile (PMI) de Blida attachées à l’Etablissement Public de Santé de Proximité (EPSP) d’Ouled Yaiche

Sous Secteur Ouled Yaiche	Polyclinique Ouled Yaiche
	Polyclinique 1 ^{er} Mai
	Salle 1240
	Polyclinique AADL
	Salle Ben Amour
Sous Secteur Bannanier (Blida Centre)	Polyclinique Bannanier
	Polyclinique Ben Boulaid
	Salle Zabana
	Salle Maramen
Sous Secteur Aggoune Youcef (Blida Centre)	Polyclinique Agoune Youcef
	Polyclinique Centre Ville
	Salle Berzali
	Salle Badr
Sous Secteur Bouarfa	Polyclinique Bouarfa
	Polyclinique Driouche
	Salle Sidi Yakoub
	Salle Mimeche
Sous Secteur Beni Merad	Polyclinique Beni Merad
	Polyclinique Diar El Bahri
	Salle Khazrouna
	Salle Kritli
	Salle El Aychi

III.2 Type d’étude

Il s’agit d’une étude de cohorte prospective

III.3 Calcul de la Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon est calculée en fonction de la population de Blida et de la prévalence de HPV à haut risque du cancer du col de l'utérus en Algérie en utilisant une équation épidémiologique comme le montre le Tableau 8.

En tenant compte des paramètres suivants :

- Erreur de risque $\alpha= 5 \%$, d'où un niveau de confiance = 95 %.
- Un risque $\beta = 20 \%$ d'où une puissance de 80 %.
- La prévalence de la de HPV à haut risque du cancer du col de l'utérus en Algérie égale 4 %,
- Une précision de 2% ;

La taille de l'échantillon ainsi déterminée est égale à 453 patientes.

Tableau 8. Formule de calcul de la taille d'échantillon pour prévalence dans notre étude.

Taille d'échantillon pour Prévalence dans une population	
Taille de population (pour facteur de correction de population fini) (N) :	1000000
Fréquence % hypothétique de facteur de résultats dans une population (p):	4%+/-2
Limites de confiance comme % de 100 (absolu +/- %)(d) :	2%
Facteur de calcul (Pour enquêtes de groupes-DEFF):	1
Taille d'échantillon (n) pour plusieurs niveaux de confiance	
Confiance Niveau(%)	Taille de l'échantillon
80%	158
90%	260
95%	369
97%	452
99%	637
99.9%	1039
99.99%	1452
Équation	
Taille d'échantillon $n = [DEFF * Np(1-p)] / [(d^2 / Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p*(1-p)]$	

(n= Taille de l'échantillon, Z= niveau de confiance selon la loi normale centrée réduite (pour un niveau de confiance de 95%, Z=1.96, pour un niveau de confiance de 99%, Z=2.575), p=proportion estimée de la population qui présente la caractéristique (lorsque inconnue, p=0.5), d= marge d'erreur tolérée, N= taille de la population)

III.4 Durée de l'étude

L'étude se déroule entre la période Janvier 2018 à Avril 2019 en suivant ces étapes :

- Recrutement des patientes et prélèvements au niveau des polycliniques et salles de soin et Protection maternelle et infantile (PMI) de Blida et le Service de gynécologie-obstétrique de l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali.
- Lecture des FCU par le service de cytologie et d'anatomopathologique de la salle de soin Berzali-EPSP Ouled Yaiche.
- Etude virologique pour dépistage et géotypage des HPV à Haut risque au Laboratoire de Papillomavirus, Herpesviridae et autres, Département de virologie, Institut Pasteur d'Algérie- Sidi Fredj.
- Validation et remise des résultats.
- Triage des patientes positives.

III.5 Patientes cibles

Les critères d'inclusion et d'exclusion sont :

III.5.1 Critères d'inclusion

- Activité sexuelle de plus de 05 ans, tout âge confondu.
- Résidence à Blida.

III.5.2 Critères d'exclusion

- Les femmes enceintes.
- Activité sexuelle de moins de 05 ans.
- Autres lieux de résidence.
- Résultat cytologique du FCU connu.
- Consentement non accordé pour la réalisation du Test HPV.

III.6 Protocole de travail

Un dépistage primaire du cancer du col de l'utérus est proposé aux femmes qui viennent en consultation aux niveaux des polycliniques et des salles de Protection maternelle et infantile (PMI) de l'EPSP Ouled Yaiche et du Service de gynécologie-obstétrique l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali de Blida.

Le comité d'éthique du CHU de Blida a certifié que, notre étude de dépistage des HPV oncogène par le Test HPV dans le cadre de lutte contre le cancer du col de l'utérus, ne présentait aucun problème d'éthique (Annexe I).

Le directeur de l'EPSP Ouled Yaiche et le Chef de service de Gynécologie-Obstétrique de l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali de Blida, nous ont autorisé à effectuer notre étude de dépistage avec le Test HPV dans le cadre de lutte contre le cancer du col de l'utérus (Annexe II, Annexe III).

Le dépistage primaire proposé consiste dans la réalisation d'un frottis cervico-utérin sur deux lames et d'un Test HPV. L'intérêt de ce dépistage primaire par le Test HPV sera expliqué pour chaque patiente pour avoir son consentement pour la réalisation du Test HPV.

Une fois le consentement éclairé obtenu par la patiente, le prélèvement cervico-utérin pour le Test HPV est effectué et une fiche de renseignements est remplie soigneusement avec la patiente.

La fiche de renseignements contient : les renseignements personnels de la patiente (Nom et prénom, Age, Adresse, Fonction, Numéro de Téléphone), les facteurs de risque lié aux infections à HPV (Age du premier rapport sexuel, Nombre de partenaire, Nombre de Grossesse, Voie d'accouchement, Mena pose, Contraception, Tabagisme, Utilisation de l'échographie endo-vaginale, notion de pratique de piscine, notion d'utilisation du bain ou hammam, Antécédent familial du cancer du col de l'utérus), l'état du col de l'utérus (Normal, Inflammatoire, Saignant au contact, Ectropion, Erosion) et la présence des signes gynécologiques (Leucorrhée, Métrorragie, Cervicite) (Annexe IV).

Les deux lames du Frottis cervico-utérin sont transportées par la patiente pour lecture au Laboratoire de cytologie et d'anatomopathologie de la salle de soin Berzali-Etablissement Publique de Santé de Proximité (EPSP) de Ouled Yaiche.

Le prélèvement cervical pour Test HPV est conservé dans un flacon contenant le milieu de transport à +4°C en attendant l'analyse moléculaire.

Une fois les résultats de l'analyse moléculaire obtenue, les patientes sont convoquées pour la remise des résultats du Test HPV et la récupération des résultats des FCU. (Fiche de résultats du Test HPV, Annexe V).

Les femmes porteuses du HPV à haut risque bénéficieront d'un suivi chez le gynécologue. La prise en charge diffère selon les résultats du FCU.

III.6.1 Le prélèvement cervico-utérin pour Test-HPV

Les prélèvements cervico-utérins sont effectués au niveau du service de Gynécologie-obstétrique de l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali du CHU de Blida ainsi que les différentes polycliniques et les salles de Protection maternelle et infantile (PMI) de Blida.

Les prélèvements cervicaux sont réalisés par nous même, les sages-femmes, les médecins généralistes et les gynécologues.

Nous rappelons que les prélèvements cervicaux ne sont effectués qu'après avoir eu le consentement de la patiente. Une fiche de renseignements est remplie avec la patiente au moment du prélèvement.

Les prélèvements sont réalisés grâce la brosse Rovers[®] Cervex-Brush[®] et le milieu de transport liquide Cobas[®] PCR Cell collection Media, en suivant ces étapes :

1. Inscrire le nom et prénom et le numéro d'identification de la patiente sur le flacon.
2. Après mise en place du speculum stérile, le prélèvement doit concerner la zone de jonction pavimento-squameuse du col.
3. Introduire les poils du milieu de la brosse assez profondément pour que les poils les plus courts soient entièrement en contact avec l'exocol.
4. Pousser avec précaution et faire tourner la brosse 5 fois dans le sens des aiguilles d'une montre.
5. Rincer la brosse dans le flacon de solution Cobas[®] PCR Cell collection Media en poussant la brosse 10 fois au fond du flacon, en forçant les poils de se séparer. Pour finir, tourner vigoureusement la brosse pour libérer ce qui reste de substance.

6. Eliminer la brosse du prélèvement et ne pas laisser la tête de la brosse dans le flacon.
 7. Serrer le bouchon de manière que sa ligne de repère dépasse celle du flacon.
- Il faut noter que l'utilisation de la Rovers[®] Cervex-Brush[®] est contre indiquée chez les patientes après 10 semaines de grossesse. Toute réutilisation entraîne une contamination et des erreurs de diagnostic.



Figure 20. La brosse Rovers[®] Cervex-Brush[®] et le milieu de transport Cobas[®]PCR Cell collection Media, matériels nécessaire pour le prélèvement cervico-utérin pour la recherche de HPV à haut risque.

(Photo S.OUKID, 2019)

III.6.2 Transport et conservation des échantillons

Les échantillons cervicaux recueillis dans le milieu de collecte de cellules pour PCR cobas[®], peuvent être transportés à une température comprise entre 2 et 30 °C et conserver pendant une période maximale de 6 mois après la date du prélèvement [3; ;].

Ainsi, tous les prélèvements cervicaux bien étiquetés et rigoureusement fermés dans les flacons de transport, sont conservés dans le réfrigérateur à +4°C pendant 15 à 30 jours.

Les prélèvements cervicaux sont conservés à Blida, ensuite transportés dans une glacière et/ou des sacs isothermes au laboratoire de Papillomavirus, Herpesviridae et autres, Département de

virologie, Institut Pasteur d'Algérie- Sidi Fredj où ils sont conservés en attendant l'analyse moléculaire.

Après extraction d'ADN et préparation automatisée du mélange réactionnel pour la PCR, les extraits d'ADN sont conservés dans les macroplaques à -20°C pour analyses moléculaires ultérieures (Hybridation reverse, séquençage). Les flacons des prélèvements cervicaux seront conservés à -20°C.

III.6.3 Analyse moléculaire et la recherche des HPV à haut risque

Cette partie est réalisée en collaboration avec l'Institut Pasteur d'Algérie.

L'analyse moléculaire et la recherche des différents génotypes HPV à haut risque sont réalisées au Laboratoire de Papillomavirus, Herpesviridae et autres, Département de virologie, Institut Pasteur d'Algérie, Sidi Fredj.

III.6.3.1 Techniques utilisées

Nous avons effectué la recherche des Génotypes HPV à haut risque par deux techniques:

- a. Une technique de PCR en temps réel par le système Cobas 4800 en utilisant le test Cobas®4800 qui permet la détermination de la présence des deux génotypes oncogènes HPV 16 et HPV 18 ainsi que d'autres HPV oncogènes sans spécifier le type. C'est un système qui assure une étude moléculaire simultanée et automatisée de 22 prélèvements cervicaux en même temps. Au total, nous avons lancé 23 réactions enregistrées par le système Cobas 4800 pour les 453 prélèvements.

- b. Une technique PCR en point final suivie de la révélation par hybridation inversée sur bandelettes en utilisant le test LINEAR ARRAY® HPV Genotyping, afin de rechercher les génotypes oncogènes autres que 16 et 18, non identifiés par le Cobas®4800. La détermination a été effectuée pour 8 patientes.

III.6.3.2 Principe de la procédure du test Cobas®4800

Le test cobas® 4800 HPV est un système automatisé qui utilise une technique de PCR en temps réel en suivant deux étapes : la préparation automatisée des échantillons pour extraire simultanément l'ADN du HPV et l'ADN cellulaire et l'amplification de séquences d'ADN

cible et détection en temps réel des sondes oligonucléotidiques clivées et marquées par fluorescence spécifiques au HPV et à la β -globine.

La préparation des échantillons pour le test cobas®4800 HPV est donc automatisée avec l'utilisation de l'appareil cobas x 480 (Figure 21, 22, 23). Les échantillons cervicaux recueillis dans le milieu de collecte de cellules pour PCR cobas®, sont digérés dans des conditions dénaturantes à des températures élevées puis lysés en présence de réactif chaotrope. Les acides nucléiques de HPV libérés, ainsi que l'ADN de la β -globine servant de témoin du processus (Contrôle interne), sont purifiés par absorption de particules magnétiques de verre, lavés et, finalement, séparés de ces particules, ce qui les prépare à l'amplification et à la détection par PCR.

L'amplification est basée sur une PCR en temps réel qui utilise un pool de 16 amorces (8 amorces sens et 8 amorces anti sens). Ainsi, le mélange réactionnel contient 7 paires d'amorces qui définissent une séquence d'environ 200 nucléotides de la région L1 conservée du génome du HPV pour amplifier l'ADN du HPV des 14 types à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) et une paire d'amorces supplémentaires ciblent le gène de la β -globine humaine (amplicon de 330 pb) à titre de contrôle interne. Le mélange contient également des sondes oligonucléotidiques fluorescentes qui se lient aux régions polymorphes dans la séquence définie par ces amorces.

Les sondes oligonucléotidiques sont marquées par quatre fluorophores différents. Le signal amplifié de douze types de HPV à haut risque (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) est détecté avec le même fluorophore, tandis que les signaux du HPV-16, du HPV-18 et de la β -globine sont chacun détectés avec leur propre fluorophore spécifique (Figure 24).

L'amplification de cible est effectuée pendant des cycles thermiques grâce à l'activation de l'ADN polymérase (EagleZ0526), chaque cycle d'amplification contient trois étapes. La première étape de l'amplification est la dénaturation de l'ADN viral et l'ADN cellulaire sous l'effet de la température élevée, le résultat de cette dénaturation est la présence d'ADN simple brin prêt à être exposé aux amorces complémentaires. À mesure que le mélange refroidit, la deuxième étape débute, les amorces en amont et en aval s'hybrident avec les séquences d'ADN cible, c'est l'hybridation. L'ADN polymérase, en présence d'ion métallique divalent et de dNTP en excès, allonge la ou les amorces, et un deuxième brin d'ADN est synthétisé, c'est l'étape de l'élongation. Le premier cycle de PCR est alors achevé,

produisant une copie d'ADN bicaténaire de la région cible du génome du HPV et du gène de la β -globine. L'ADN polymérase permet l'extension des amorces hybridées le long des matrices cibles pour produire une molécule cible d'ADN bicaténaire appelée « amplicon ». Ce processus est répété pendant un certain nombre de cycles, chaque cycle doublant effectivement la quantité d'ADN d'amplicon.

L'avantage de la PCR en temps réel est que l'amplification et la détection se fait simultanément. Dans la réaction, chaque sonde oligonucléotidique est marquée par un fluorophore servant de rapporteur et par un quencher qui absorbe les émissions fluorescentes du fluorophore quand la sonde est intacte. À mesure que l'amplification progresse, les sondes qui sont complémentaires à l'amplicon se lient à des séquences d'ADN monocaténaire spécifiques et sont clivées par l'activité nucléasique 5' à 3' de l'ADN polymérase. Une fois que le fluorophore rapporteur est séparé du quencher par cette activité nucléase, 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 à l'amplicon de HPV-16, à l'amplicon de HPV-18, à d'autres amplicons à risque élevé (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68) et au témoin de β -globine d'être mesurés indépendamment, puisque les sondes propres à ces séquences sont marquées avec différents fluorophores.

Le système Cobas 4800® utilise une amplification sélective pour augmenter la spécificité de la technique en éliminant les ADN résiduels (amplicons) des réactions précédentes, ainsi le risque d'avoir des résultats faux positifs est éliminé. L'amplification sélective est effectuée avant le début de la PCR en temps réel.

Le principe de l'amplification sélective de l'acide nucléique cible repose sur l'activité de l'enzyme AmpErase (uracil-N-glycosylase) sur le désoxyuridine triphosphate (dUTP). Cette enzyme est activée à 50°C et inactivée à des températures supérieures à 55°C. L'enzyme AmpErase reconnaît les brins d'ADN contenant de la désoxyuridine et catalyse leur destruction, mais pas celle de l'ADN contenant de la désoxythymidine. L'ADN naturel ne contient pas de désoxyuridine, mais les amplicons en contiennent toujours du fait de l'utilisation de désoxyuridine triphosphate au lieu de la thymidine triphosphate comme l'un des dNTP du mélange réactionnel. Ainsi, seuls les amplicons renferment de la désoxyuridine. La désoxyuridine rend les amplicons contaminants (résiduels des réactions précédentes) susceptibles d'être détruits par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible.

L'enzyme AmpErase, contenue dans le mélange réactionnel, catalyse le clivage de l'ADN contenant de la désoxyuridine au niveau des résidus de désoxyuridine, en ouvrant la chaîne de désoxyribose en position C1. Lorsqu'elle est chauffée au cours de la première étape du thermocyclage, la chaîne d'ADN de l'amplicon se scinde à la position de la désoxyuridine, rendant ainsi l'ADN non amplifiable.

L'enzyme AmpErase est inactive à une température supérieure à 55 °C (c'est-à-dire pendant toutes les étapes du cycle thermique) et ne détruit donc pas l'amplicon cible.

L'annexe VI contient le matériel nécessaire pour la réaction.

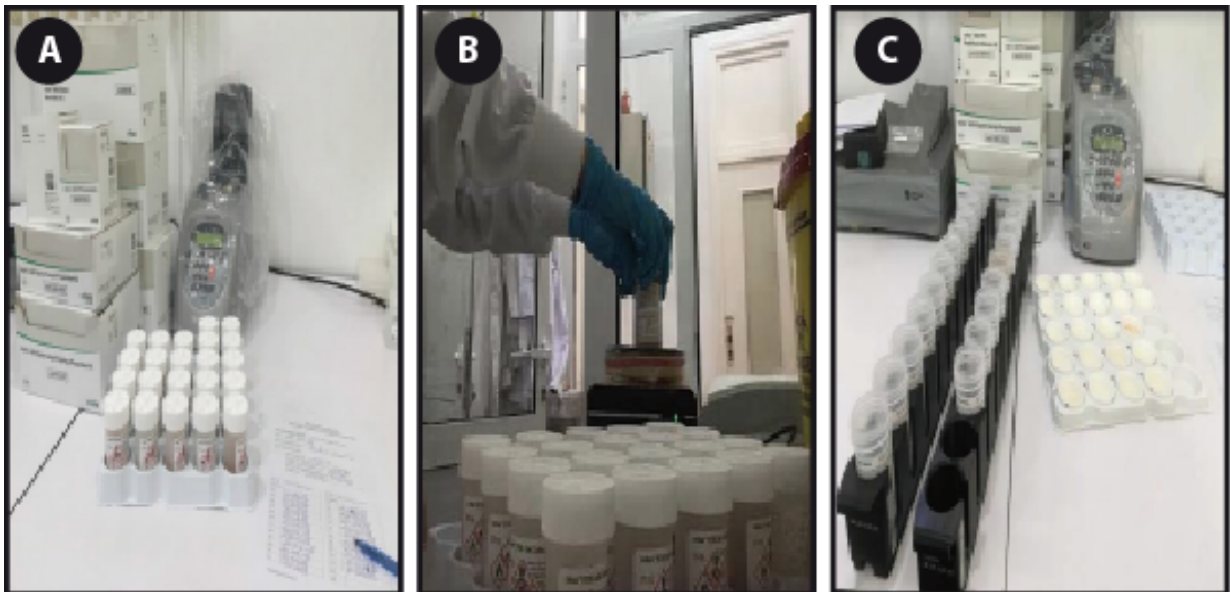


Figure 21. Préparation des échantillons cervicaux.

A : Remplir la fiche de paillasse (Date de la réaction et Numéro d'identification de chaque échantillon) et faire sortir les réactifs du réfrigérateur. B : Vortexer les échantillons pour homogénéisation. C: Placer les 22 échantillons dans le portoir 1 et le portoir 2 dans un ordre déterminé.

(Photo S.OUKID, 2019)

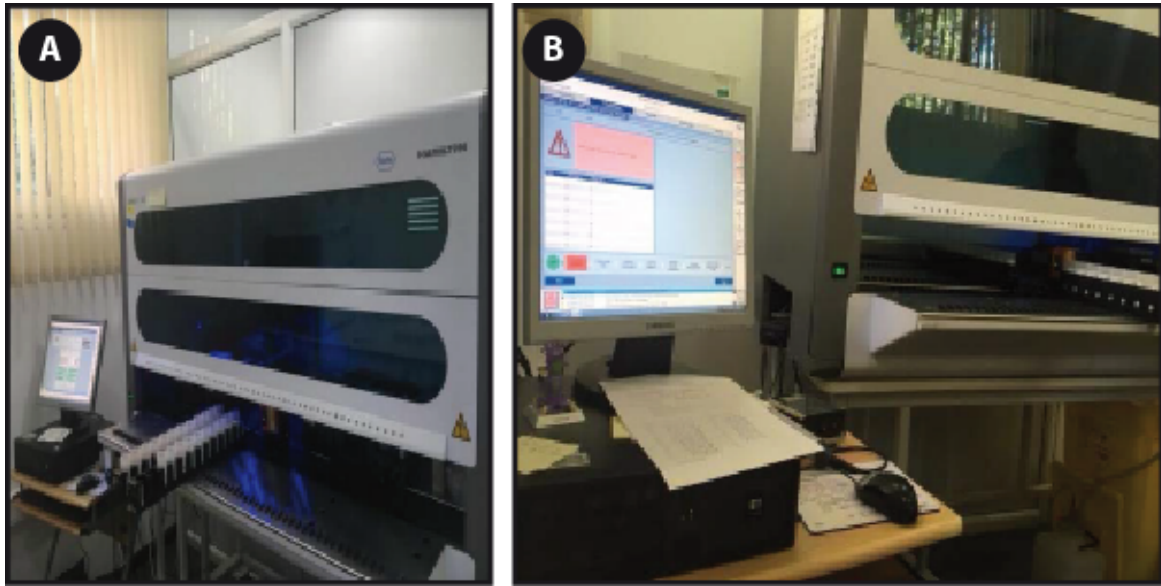


Figure 22. Mise en place des échantillons dans le Cobas x 480 pour l'étape de l'extraction d'ADN et la préparation automatisée des échantillons pour l'amplification PCR

A: Une série de 22 échantillons est placée dans le compartiment adéquat du Cobas x 480. B: Enregistrement manuelle des échantillons sur le logiciel Cobas 4800. (Photos S.OUKID, 2019)

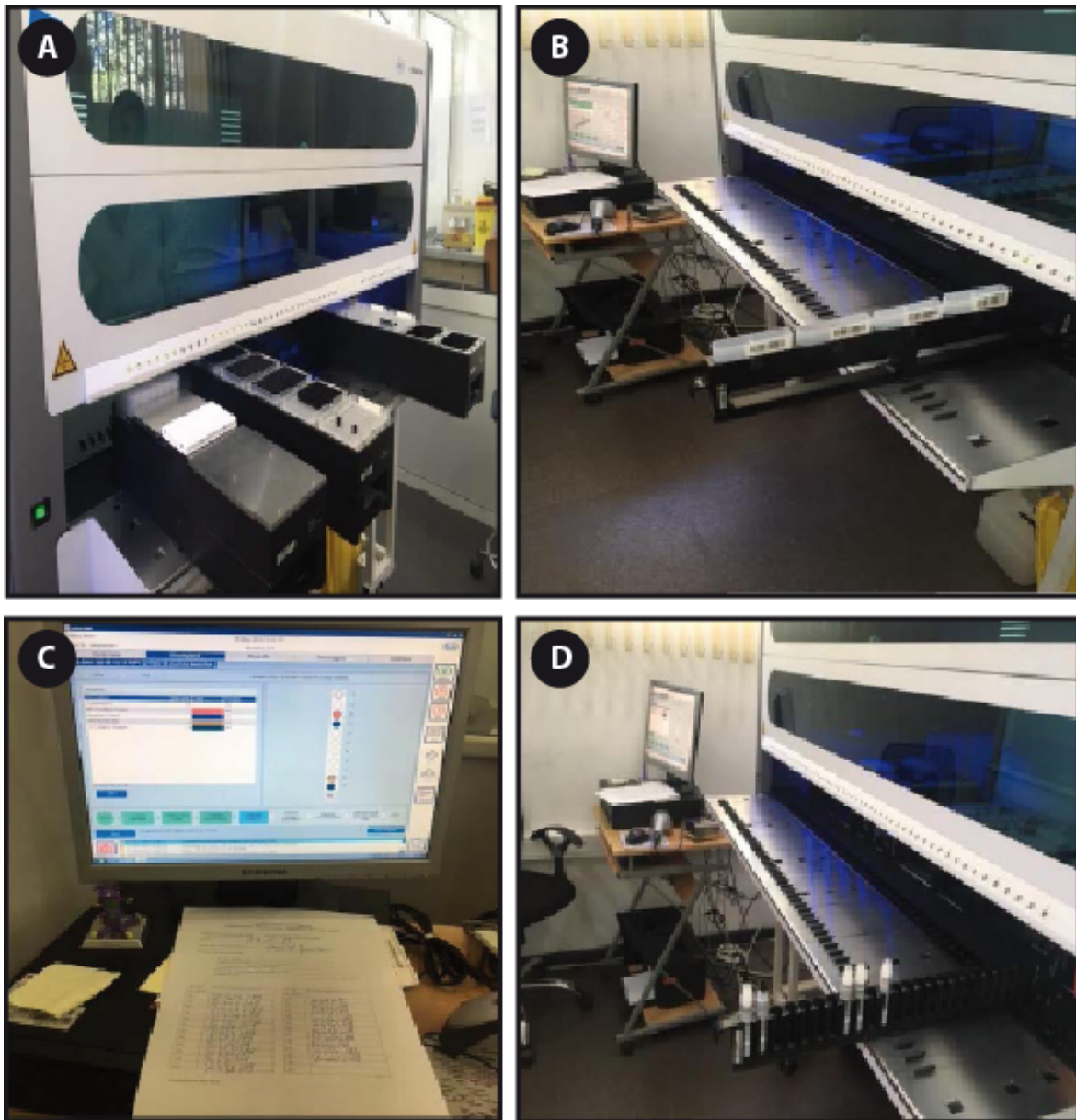


Figure 23. Mise en place du consommable et des réactifs dans le Cobas x 480.

A: La macroplaque et la microplaque et les embouts. B, D : Les différents réactifs, C : En suivant les directives du logiciel du système Cobas 4800. La réaction automatisée du Cobas x 480 dure 1h30.

(Photos S.OUKID, 2019)

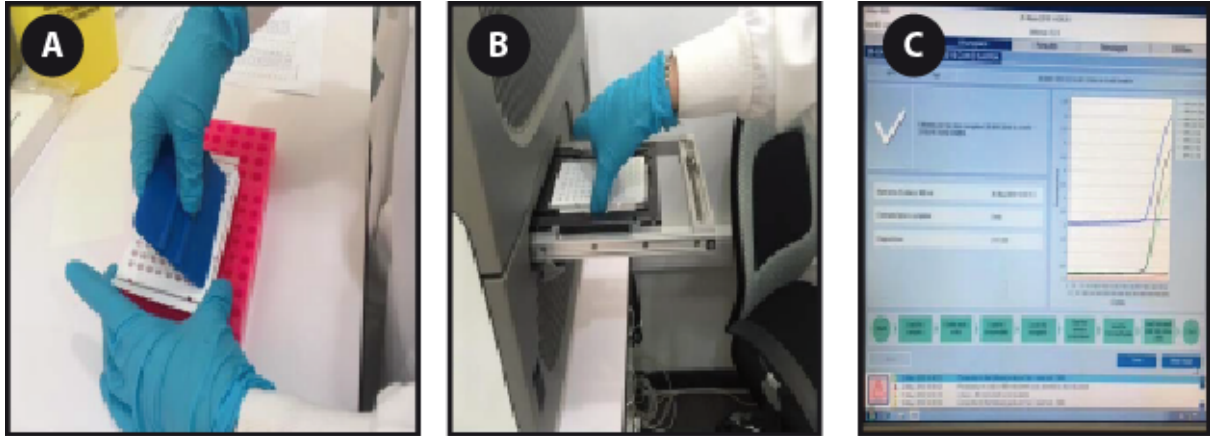


Figure 24. Amplification par PCR en temps réel grâce au Cobas Z 480. (Photos S.OUKID, 2019)

A : Préparation de la microplaque contenant les extraits ADN mélangés au mix ainsi que les témoins. **B :** Intégration de la plaque dans le Cobas z480 après l'avoir couvert délicatement par un papier adhésif. **C :** Fin de la PCR en temps réel et la révélation. On peut observer les différentes couleurs des fluorophores témoignant de la validation des témoins positifs et négatifs ainsi que le contrôle interne. La réaction de PCR en temps réel dure 2h00.

Tableau 9. Différentes troussees des réactifs utilisés pour le test Cobas 4800.

<p>Cobas® 4800 HPV Amplification/Detection Kit</p>	<p>HPV Master MiX : mélange réactionnel : Tampon tricine Acétate de potassium Hydroxyde de potassium Glycérol < 0,13 % de dATP, de dCTP, de dGTP, de dUTP < 0,01 % d'amorces de VPH en amont et en aval < 0,01 % d'amorces de β-globine en amont et en aval < 0,01 % de sondes du VPH marquées par fluorescence < 0,01 % de sondes de la β-globine marquées par fluorescence < 0,10 % d'ADN polymérase EagleZ05 (microbien) < 0,10 % d'enzyme AmpErase (uracil-N-glycosylase) (microbien) 0,09 % d'azoture de sodium</p>	<p>HPV Mg/Mn : Acétate de magnésium Acétate de manganèse < 0,02 % d'acide acétique glacial 0,09 % d'azoture de sodium</p>	
<p>Cobas® 4800 HPV Controls Kit</p>	<p>HPV (+) C : témoin positif Tampon Tris-HCl EDTA 0,05 % d'azoture de sodium < 0,00001 % d'ARN poly (rA) (synthétique) < 0,00001 % d'ADN plasmidique non infectieux (d'origine microbienne) contenant des séquences des VPH 16, 18 et 39 < 0,00001 % d'ADN plasmidique non infectieux (d'origine microbienne) contenant des séquences de β-globine humaine</p>	<p>(-) C :témoin négatif Tampon Tris-HCl EDTA 0,05 % d'azoture de sodium < 0,00001 % d'ARN poly (rA) (synthétique)</p>	

Cobas® 4800 System Sample Preparation Kit	MGP : Particules magnétiques de verre 93 % d'isopropanol	EB 10 x 18 mL (tampon d'élution, Tampon Tris-HCl 0,09 % d'azoture de sodium	
Cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	WB tampon de lavage : Citrate de sodium dihydraté 0,05 % de chlorhydrate de N-méthylisothiazolone		
Cobas® 4800 System Liquid Cytology Preparation Kit	PK : protéinase K : Tampon Tris-HCl < 0,05 % d'EDTA Glycérol Chlorure de calcium Acétate de calcium < 2 % de protéinase K Xn < 2 % (m/m) de protéinase K	SDS : Tampon Tris-HCl 0,2 % de SDS 0,09 % d'azoture de sodium	LYS : Tampon Tris-HCl 37 % de chlorhydrate de guanidine < 5 % de polydocanol Xn 37 % (m/m) de chlorhydrate de guanidine N < 5 % (m/m) de polydocanol

III.6.3.3 Principe de la Procédure du test LINEAR ARRAY® HPV Genotyping

Le test de génotypage LINEAR ARRAY HPV est basé sur la technique de l'hybridation inverse.

Le principe de l'hybridation inverse (*reverse line blotting*) repose sur la mise en contact des produits d'amplification en phase liquide d'une part et des sondes oligonucléotidiques spécifiques immobilisées sur un support solide de type membrane de nylon d'autre part.

Les bandelettes sur lesquelles les différentes sondes HPV sont déposées selon des bandes parallèles. Les produits d'hybridation présents sont révélés par réaction colorimétrique.

La correspondance entre les positions des bandes apparues et les génotypes HPV est déterminée par lecture visuelle d'après une bandelette de référence.

Le test de génotypage LINEAR ARRAY HPV est effectué en plusieurs étapes : l'extraction de l'ADN cible de HPV et l'ADN génomique humain appropriés suivi d'une l'amplification

par PCR en point final grâce au réactif Master Mix contenant des amorces biotinylées du système PGMY09/PGMY11 qui définit une séquence de 450 pb de la région L1 conservée reconnaissant l'ADN de 37 géotypes de HPV dont 13 géotypes à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68) et une paire d'amorces qui définit une séquence de 268 pb du gène humain β -globine. Le réactif Master Mix contient également des séquences de sonde de capture situées dans des régions polymorphes de L1 liées aux amorces. Et à la fin, l'étape de la détection et la détermination de géotype qui s'effectuent en utilisant l'ADN amplifié dénaturé et un réseau de sondes oligonucléotidiques permettant l'identification indépendante de géotypes de HPV individuels.

Dans notre étude, L'étape de l'extraction de l'ADN n'est pas réalisée. Nous avons utilisé les extraits d'ADN (conservés à -20°C) des réactions effectuées par le système Cobas® 4800. Les extraits d'ADN des patientes correspondantes sont décongelés à température ambiante.

Après la préparation des aliquots du mélange réactionnel et des extraits d'ADN, les aliquots sont placés dans le bloc du thermocycleur pour une amplification par PCR en point final qui durera 4 heures (Figure 25). Pour le test de géotypage LINEAR ARRAY HPV programmer le thermocycleur (PCR System 9700 GeneAmp à 96 puits dorés d'Applied Biosystems) comme suit :

Programme HOLD: 2 min 50°C

Programme HOLD: 9 min 95°C

Programme CYCLE (40 Cycles) :30 sec 95°C , 1 min 55°C , 1 min 72°C (taux de rampe= 50%)

Programme HOLD : 5 min 7°C

Programme HOLD : 72°C Indéfiniment

La réaction utilise l'ADN polymérase (AmpliTaq Gold) avec démarrage « à chaud » pour l'amplification de l'ADN cible de HPV et du contrôle de β -globine. Tout d'abord, le mélange réactionnel de PCR est chauffé afin d'activer l'ADN polymérase, pour dénaturer l'ADN viral et l'ADN génomique humain et pour exposer les séquences cibles des amorces. Au fur et à mesure que le mélange se refroidit, les amorces (autant en amont qu'en aval) s'apparient à l'ADN cible. L'ADN polymérase, en présence de Mg^{2+} et de dNTP excédentaires, étend les amorces appariées le long des modèles cibles afin de produire une molécule d'ADN cible de

HPV à double brin comprenant environ 450 paires de base ou une molécule d'ADN de β -globine comprenant 268 paires de base, appelée amplicon. Ce procédé est répété pendant un certain nombre de cycles, chaque cycle doublant effectivement le nombre d'ADN d'amplicon.

Comme le test cobas 4800®, le test de génotypage LINEAR ARRAY HPV utilise une amplification sélective pour augmenter la spécificité de la technique en éliminant les ADN résiduels (amplicons) des réactions précédentes, ainsi le risque d'avoir des résultats faux positifs est éliminé. L'amplification sélective est effectuée avant le début de la PCR.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible à partir de l'échantillon est réalisée grâce au test de génotypage LINEAR ARRAY HPV à l'aide de l'enzyme AmpErase (uracil-N-glycosylase) et du triphosphate de désoxyuridine (dUTP). L'enzyme AmpErase reconnaît et catalyse la destruction des brins d'ADN contenant de la désoxyuridine, mais pas de l'ADN contenant de la désoxythymidine. La désoxyuridine n'est pas présente dans l'ADN naturel, mais est toujours présente dans l'amplicon en raison de l'utilisation de triphosphate de désoxyuridine en plus du triphosphate de désoxythymidine dans le réactif Master Mix ; seul l'amplicon contient donc de la désoxyuridine. La désoxyuridine rend l'amplicon contaminant susceptible d'être détruit par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible. L'enzyme AmpErase, comprise dans le réactif Master Mix, catalyse le clivage de l'ADN contenant de la désoxyuridine au niveau des résidus de désoxyuridine en ouvrant la chaîne de désoxyribose à la position C1. Une fois chauffée lors de la première étape de thermocyclage au pH alcalin du Master Mix, la chaîne d'ADN de l'amplicon se casse à la position de la désoxyuridine, rendant ainsi l'ADN non amplifiable. L'enzyme AmpErase est inactive à des températures supérieures à 55°C, c'est-à-dire lors des étapes de thermocyclage, et ne détruit donc pas l'amplicon cible. Après l'amplification, toute enzyme résiduelle est dénaturée par l'ajout de la solution de dénaturation, empêchant ainsi la dégradation de tout amplicon cible.

Suite à l'amplification par PCR, les amplicons de HPV et de β -globine sont chimiquement dénaturés pour former de l'ADN monocaténaire par l'ajout de solution de dénaturation. Les aliquots de l'amplicon dénaturé sont ensuite transférés au puits approprié de la plaque de typage contenant le tampon d'hybridation et une unique bandelette de génotypage LINEAR ARRAY HPV recouverte des lignes de sonde de HPV et β -globine. L'amplicon marqué à la

biotine sera hybridé avec des sondes oligonucléotidiques seulement si l'amplicon contient la séquence correspondante de la sonde complémentaire. De plus, la bandelette de génotypage LINEAR ARRAY HPV est recouverte d'une sonde oligonucléotidique à réaction croisée qui s'hybride avec les génotypes HPV 33, 35, 52 et 58. L'amplicon comprenant des séquences très proches (seulement de 1 à 3 mésappariements) complémentaires de la sonde sera hybridé à cette ligne de sonde (Figure 26).

Suite à la réaction d'hybridation, la bandelette de génotypage LINEAR ARRAY HPV est rigoureusement nettoyée pour enlever toute substance non liée. Le conjugué de Streptavidine-peroxydase est ensuite ajouté sur la bandelette. Le conjugué de Streptavidine-peroxydase se lie à l'amplicon marqué à la biotine hybridé aux sondes oligonucléotidiques sur la bandelette. La bandelette est nettoyée pour enlever tout conjugué de Streptavidine-peroxydase non lié et une solution de substrat contenant du peroxyde d'hydrogène et de la 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) est ajoutée à chaque bandelette. En présence de peroxyde d'hydrogène, le conjugué de Streptavidine-peroxydase catalyse l'oxydation de TMB pour former un complexe de couleur bleue qui est précipité aux positions de sonde où l'hybridation a lieu. La bandelette de génotypage LINEAR ARRAY HPV est ensuite lue visuellement en comparant le motif de lignes bleues au Guide de référence du test de génotypage LINEAR ARRAY HPV (Figure 27).

L'annexe VII contient le matériel nécessaire pour la réaction.

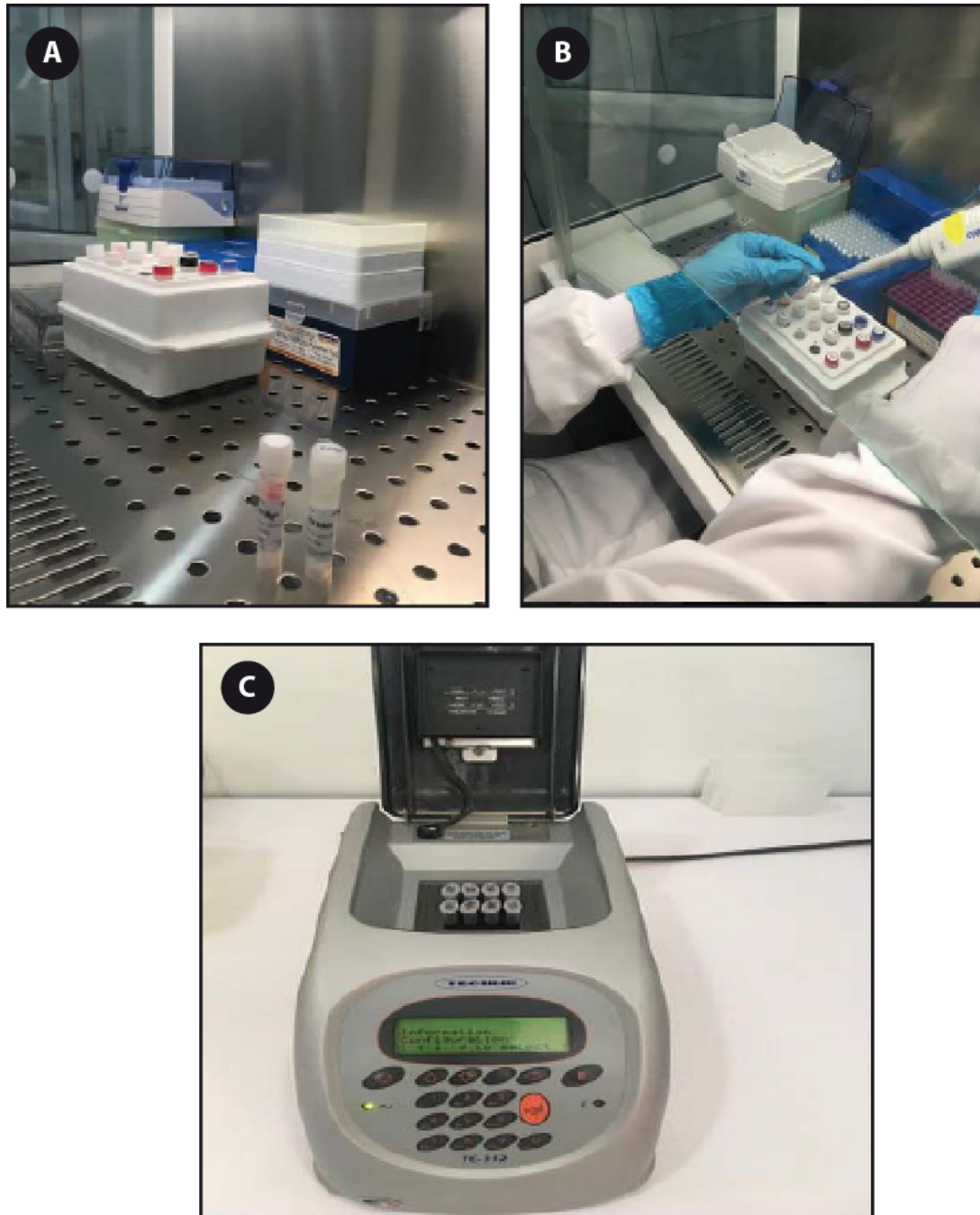


Figure 25. Préparation des échantillons pour l'amplification:

A : Préparation des réactifs HPV MMX et HPV Mg²⁺, B : Dans un eppendorf ajouter le 50µL HPV MMX+ 125µL HPV Mg²⁺+ 50µL échantillon, C : Placer les 8 échantillons à l'intérieur du thermocycleur et débiter le programme. L'amplification durera 4h pour 40 cycles. A la fin de la réaction on ajoute la solution de denaturation dans chaque eppendorf.

(Photos S.OUKID, 2019).

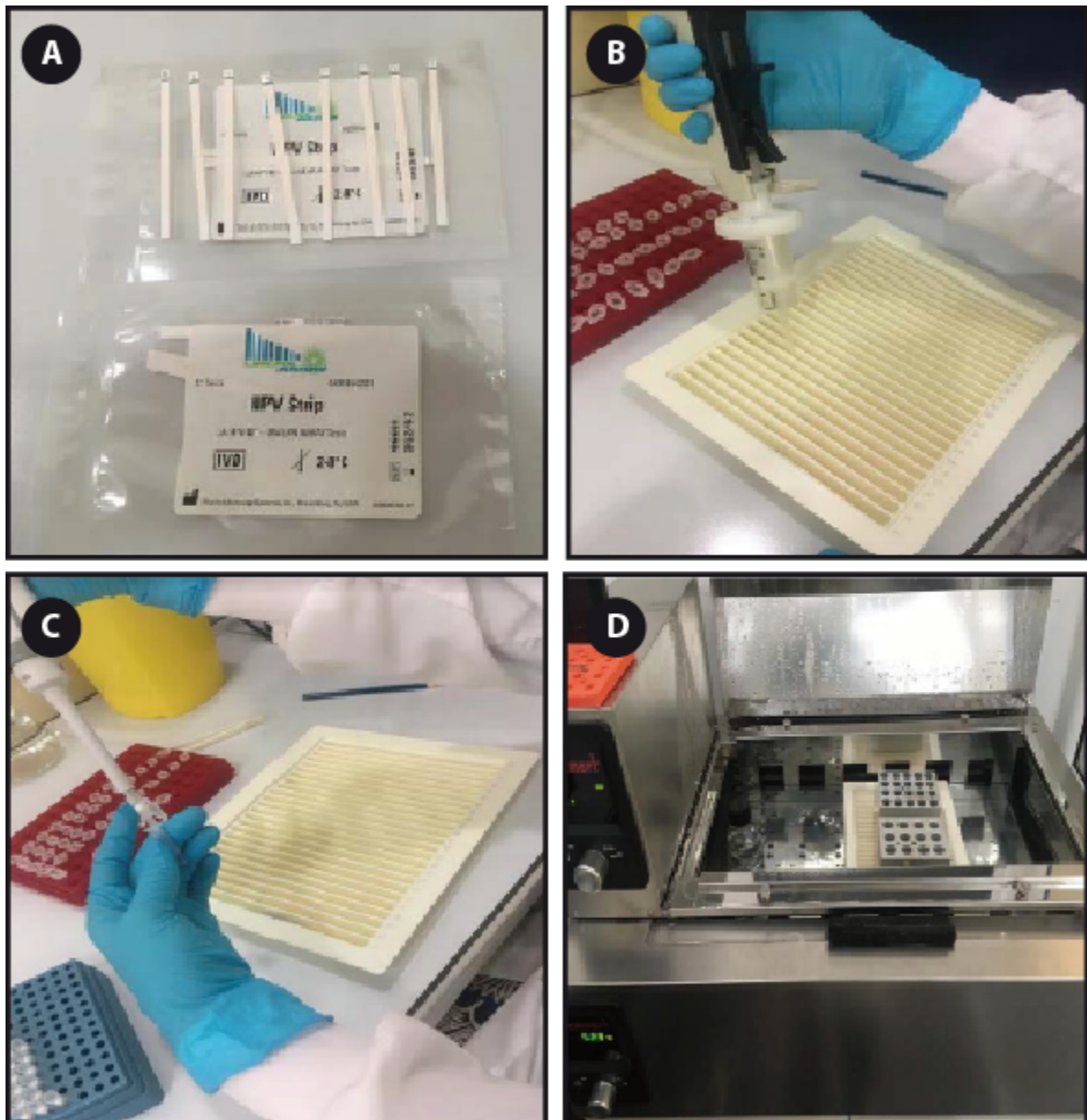


Figure 26. Hybridation reverse grâce au kit Linear Array genotyping Test:

A: Numeroter les bandellettes d'hybridation, B: Déposer chaque Bandellette dans un puit de la plaque de culture et y ajouter 4 ml de solution tompon préchauffée à 53°C, C : Transférer 100µl de chaque échantillon amplifié (amplimère) dans le puit approprié, D : Mettre au bain marie à 53°C, sous agitation, pendant 30 min. Effectuer un lavage après l'incubation.

(Photos S.OUKID, 2019)

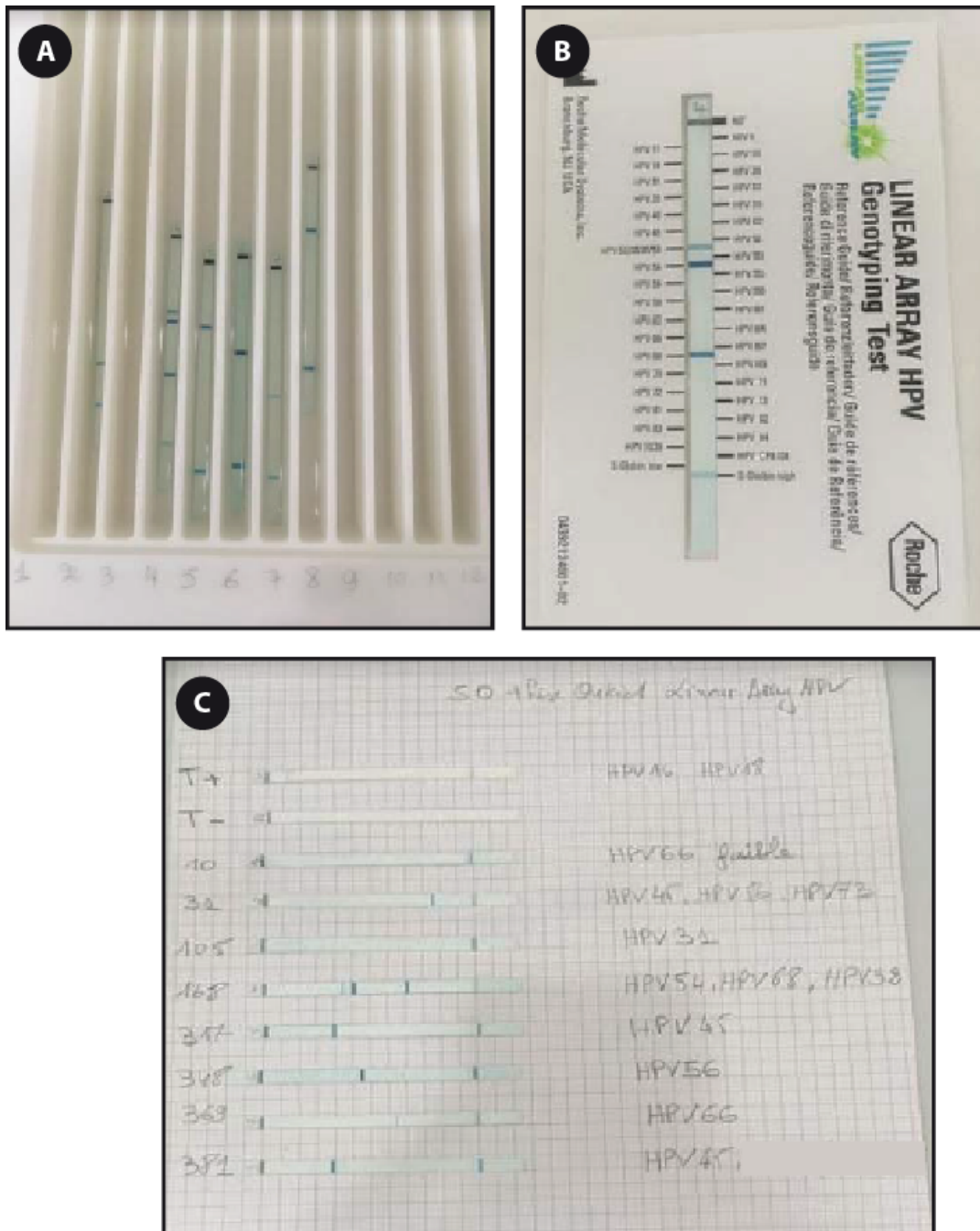


Figure 27. Révélation et interprétation des Génotype HPV-HR :

A : Ajouter le Conjugué+ les substrats et mettre la plaque sous agitation pendant 5 min, une réaction positive est révélée par les bandes bleues aux positions des sondes où l'hybridation a eu lieu. B : La bandelette de génotypage LINEAR ARRAY HPV est ensuite lue visuellement en comparant le motif de lignes bleues au Guide de référence du test de génotypage LINEAR ARRAY HPV, pour cette patiente on observe la présence de HPV 54, HPV68 et HPV 52, sans oublier de mentionner la validation du contrôle interne avec la présence de la β -globine sur chaque bandelette. C : Fiche de résultat des 8 patientes analysées et les contrôles positif et négatif (Photos S.OUKID, 2019).

Tableau 10. Différentes trousse des réactifs utilisés pour LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test.

AmpliLute Liquid Media Extraction Kit	LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test	LINEAR ARRAY Détection Kit
CAR ARN synthétique, lyophilisé (Ajouter AVE)	HPV MMX Master Mix Tampon de Tris Chlorure de potassium < 0,02 % d'ADN Polymérase AmpliTaq Gold < 0,1 % d'enzyme, AmpErase (uracil-N-glycosylase) < 0,001 % de dATP, dCTP, dUTP, dGTP, dTTP < 0,001 % de chaque amorce en amont et en aval (biotinylé) 0,06 % d'azide de sodium	DN (Solution de dénaturation) 1,6 % d'hydroxyde de sodium EDTA, Thymol bleu Xi 1,6 % (M/M) d'hydroxyde de sodium
PK , Protéinase K, Sérine Protéinase, tritirachium album Xn Protéinase K	HPV Mg2+ Solution de magnésium < 1 % de chlorure de magnésium Amaranthe (colorant) 0,05 % d'azide de sodium	SDS (Concentré de SDS) 20 % de laurylsulfate de sodium (SDS) 1 % de conservateur ProClin® 150
AVE (Tampon d'élution) Eau sans RNase < 0,09 % d'azide de sodium	HPV (+) C , Contrôle positif Tampon Tris-HCl EDTA < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique) < 0,001 % d'ADN plasmidique non infectieux (microbien) contenant des séquences de HPV < 0,001 % d'ADN plasmidique non infectieux (microbien) contenant des séquences de β-globine humaine 0,05 % d'azide de sodium	SSPE (Concentré de SSPE) Solution de phosphate de sodium Chlorure de sodium EDTA 1 % de conservateur ProClin® 150
AW2 (Tampon de nettoyage 2) Tampon Tris-HCl < 0,09 % d'azide de sodium (Ajouter de l'éthanol absolu)	HPV (-) C , Contrôle négatif Tampon Tris-HCl EDTA < 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique) 0,05 % d'azide de sodium	SA-HRP , Conjugué de Streptavidine-peroxydase de raifort Tampon ACES, Chlorure de sodium 1 % de conservateur ProClin® 150
ATL (Tampon de lyse de tissu) EDTA ≤ 10 % de dodécylsulfate de sodium	HPV Strip Bandelette de nylon recouverte de sondes d'ADN de HPV et d'1 sonde d'ADN de β-globine humaine	CIT Solution de citrate
AL (Tampon de lyse) ≤ 50 % de HCl de guanidine Xn 25-50 % de HCl de guanidine		SUB A (Substrat A) Solution de citrate 0,01 % de peroxyde d'hydrogène 0,1 % de conservateur ProClin® 150
EXT (Diluants de colonne, 3 mL)		SUB B (Substrat B) 0,1% de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) 40 % de diméthylformamide (DMF) T 40 % (M/M) de diméthylformamide (DMF)
VC (VacConnectors)		
ELT (Tubes d'élution, 1,5 mL)		
CLM Membrane de silice (Colonnes QIAamp® MinElute®)		

III.7 Analyse statistique

La comparaison des proportions a été réalisée avec le test Chi deux. Le seuil de significativité est tel que $p < 0.05$.

Une régression logistique multivariée a permis de calculer l'Odds Ratio (OR) avec intervalle de confiance à 95% (IC95%).

Quand l'Odds Ratio est supérieur à 1, cela veut dire que la variable étudiée est un facteur de risque d'acquisition de la maladie. Quand l'Odds Ratio est inférieur à 1, cela veut dire que la variable étudiée n'est pas un facteur de risque contre l'acquisition de la maladie.

III.8 Recherche bibliographique

Elle a été réalisée jusqu'au 31 Mai 2019.

Les mots-clefs utilisés étaient : « HPV », « Human Papilloma virus », « cancer du col de l'utérus », « Prévalence », « Génotype à haut risque », « Test HPV », « Vaccination anti HPV ».

L'accès aux articles référencés était dans les bases de données en ligne suivantes :

Google Scholar, Medline, PubMed, EM Premium et ESCMID e-Library. Le moteur de recherche Google a été utilisé pour accéder aux sites de références.

La recherche bibliographique était renforcée aussi grâce à l'accès aux ouvrages de références.

IV. RESULTATS

IV. RESULTATS

Nous avons effectué notre étude durant une période qui s'étale de Janvier 2018 à Avril 2019. Nous avons réalisé un total de 453 prélèvements cervicaux. Nous avons exclu 9 prélèvements : 5 candidates avaient une activité sexuelle de moins de 5 ans, 3 patientes ont été prélevées deux fois et 1 prélèvement invalide après PCR en temps réel. De ce fait, 444 prélèvements cervicaux sont retenus dans notre étude (Figure 28).

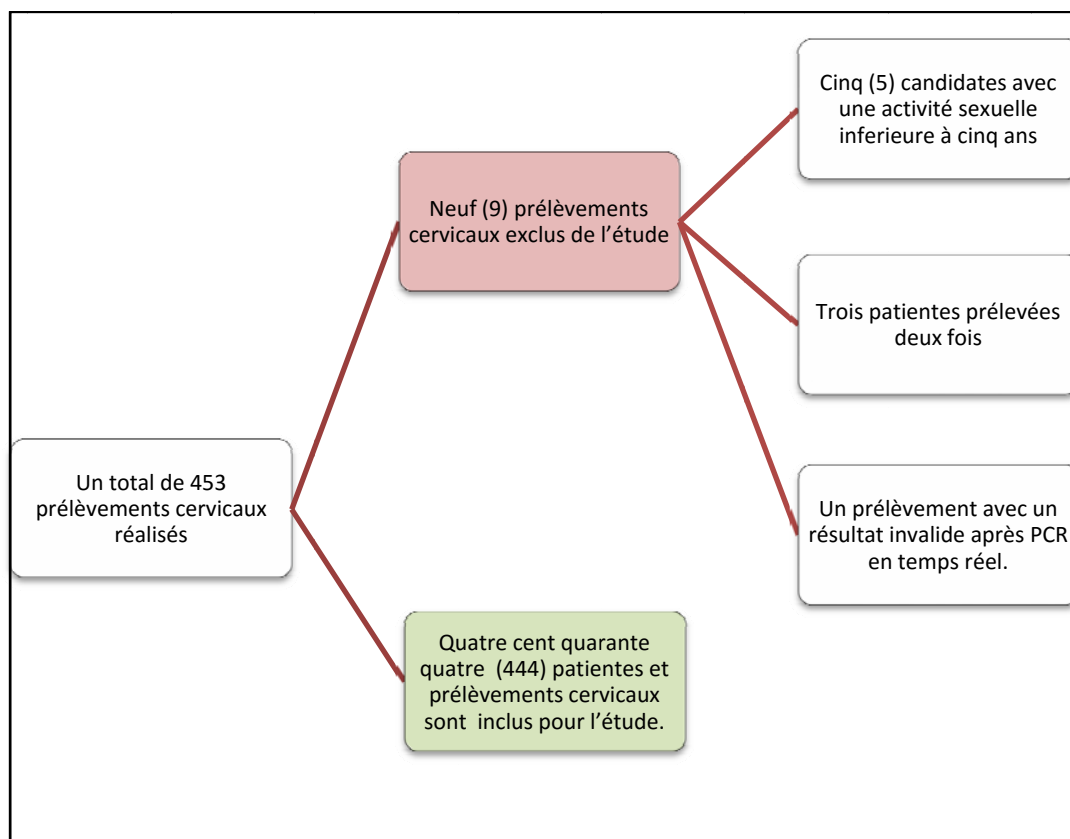


Figure 28. Critères d'inclusion et d'exclusion des prélèvements cervicaux retenus pour l'étude.

IV.1 Description de la population

IV.1.1 Description démographique

IV.1.1.1 Répartition des patientes selon la Commune de résidence

Notre étude a ciblé les patientes résidentes à Blida. La répartition des femmes incluses dans l'étude selon la commune de résidence est présentée dans la Figure 29, la figure 30 et le Tableau 11.

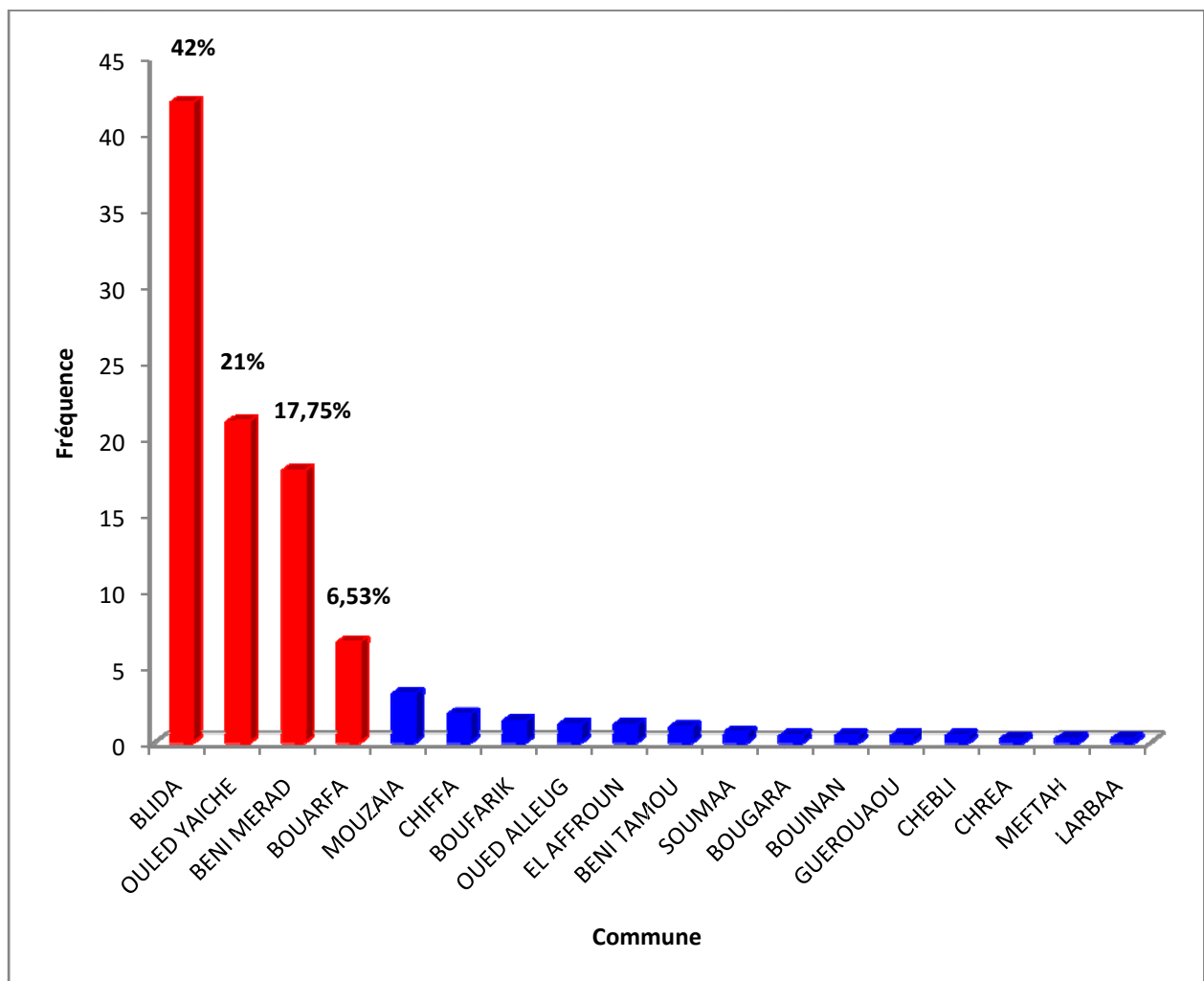


Figure 29. Répartition des patientes selon la Commune de résidence, N=444

Tableau 11. Répartition des patientes selon la Commune de résidence

Région	Effectif	%
BLIDA	187	42%
OULED YAICH	93	21%
BENI MERAD	79	17,75%
BOUARFA	29	6,53%
MOUZAIA	14	3,15%
CHIFFA	8	1,8%
BOUFARIK	6	1,35%
OUED ALLEUG	5	1,13%
EL AFFROUN	5	1,12%
BENI TAMOU	4	1%
SOUMAA	3	0,67%
BOUGARA	2	0,45%
BOUINAN	2	0,45%
GUEROUAOU	2	0,45%
CHEBLI	2	0,45%
MEFTAH	1	0,23%
LARBAA	1	0,23%
CHREA	1	0,24%
TOTAL	444	100%

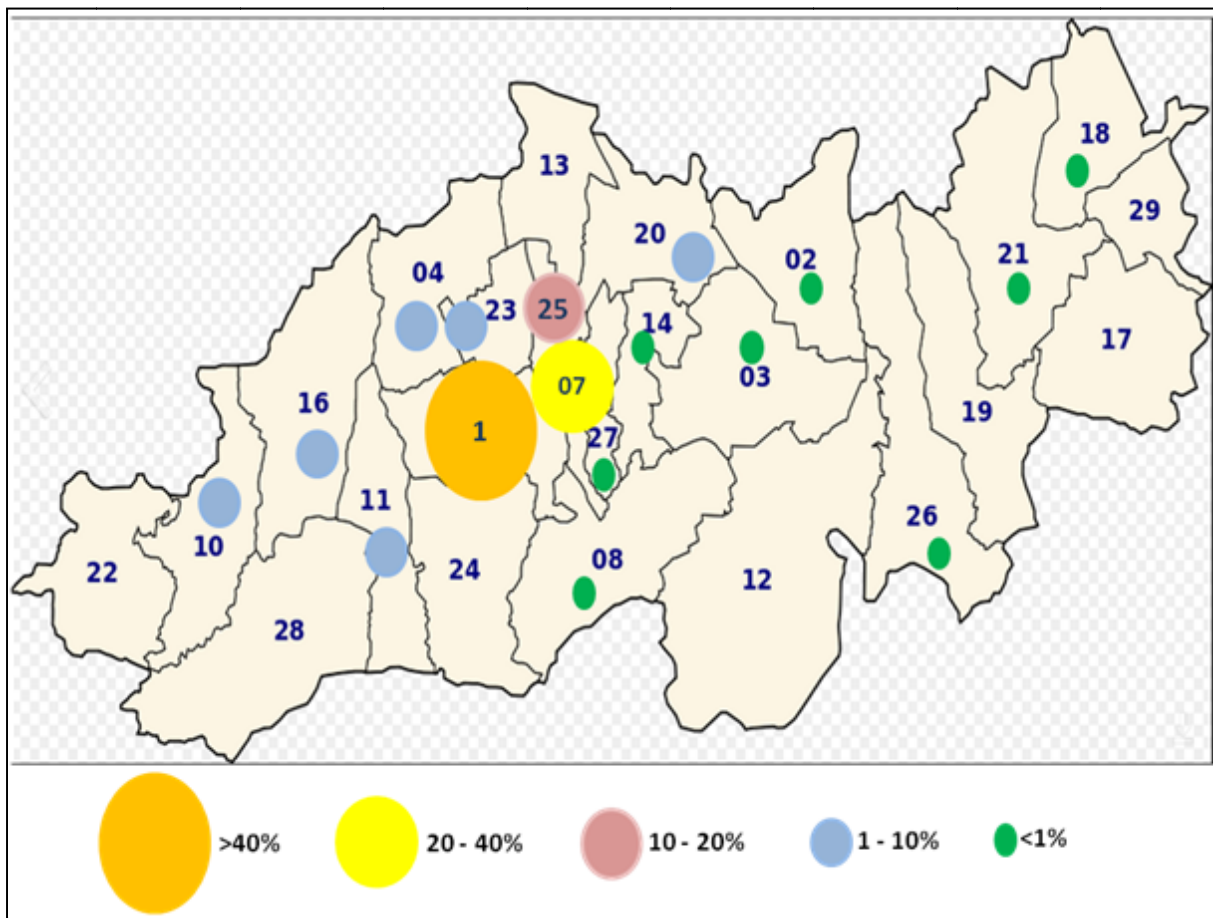


Figure 30. Répartition des patientes de l'étude selon la cartographie de la Wilaya de Blida (établi par Office National des Statistique d'Algérie : **01.** Blida • **02.** Chebli • **03.** Bouinan • **04.** Oued Alleug • **07.** Ouled Yaïche • **08.** Chréa • **10.** El Affroun • **11.** Chiffa • **12.** Hammam Melouane • **13.** Benkhelil • **14.** Soumaa • **16.** Mouzaia • **17.** Souhane • **18.** Meftah • **19.** Ouled Slama • **20.** Boufarik • **21.** Larbaa • **22.** Oued Djer • **23.** Beni Tamou • **24.** Bouarfa • **25.** Beni Mered • **26.** Bougara • **27.** Guerouaou • **28.** Aïn Romana • **29.** Djebabra.) [3; 2_

IV.1.1.2 Répartition des patientes selon la profession

Les femmes prélevées sont réparties selon leur fonction en : Femme sans fonction (Femme au foyer) et femmes fonctionnaires. La fréquence des femmes sans fonction était de 88% (391/444).

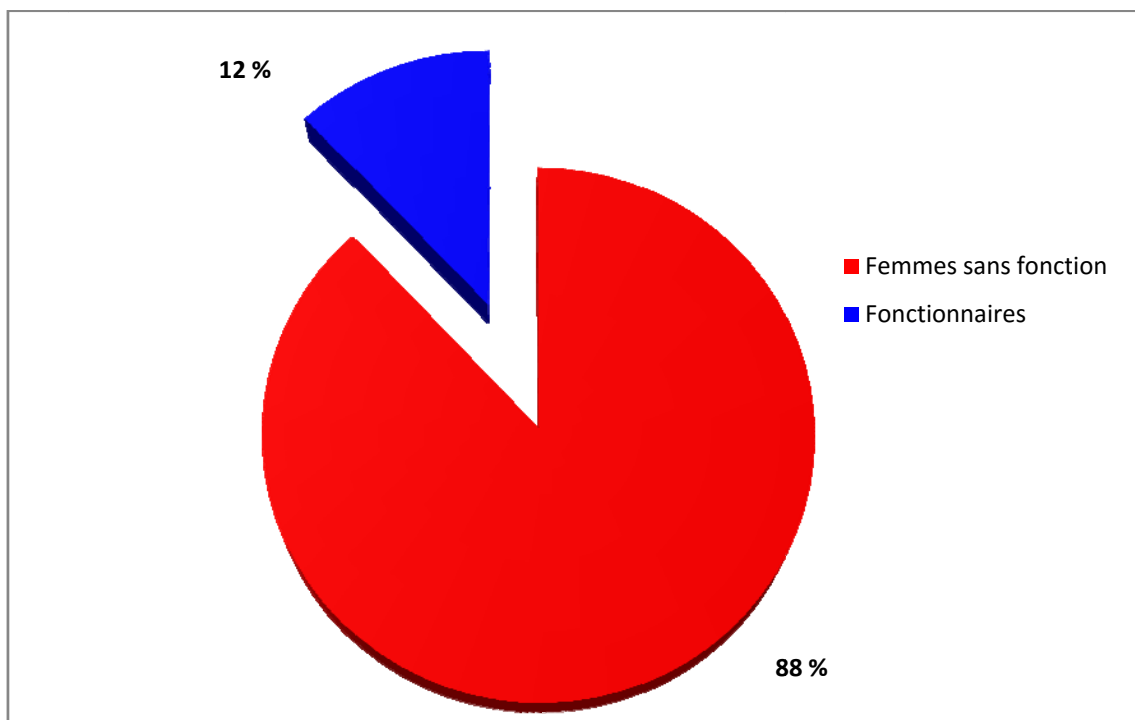


Figure 31. Répartition des patientes selon leur profession, N=444

Tableau 12. Répartition des patientes selon leur profession

Profession	Effectif	Fréquence (%)
Femmes sans fonction	391	88%
Fonctionnaires	53	12%
Total	444	100%

IV.1.2 Description de l'échantillon

La description de l'échantillon suivra ce plan : répartition des patientes selon l'âge, selon le résultat cytologique des FCU et selon les différents facteurs de risque d'acquisition du HPV à haut risque oncogène.

IV.1.2.1 Répartition des patientes selon l'âge

Dans la population de l'étude, nous notons que l'âge moyen des patientes de l'étude est de 44,37 ans [24-84 ans], [44,37±10.02, IC à 95%=43,43-45,30]. La figure 32 montre le calcul de la médiane de l'âge des patientes.

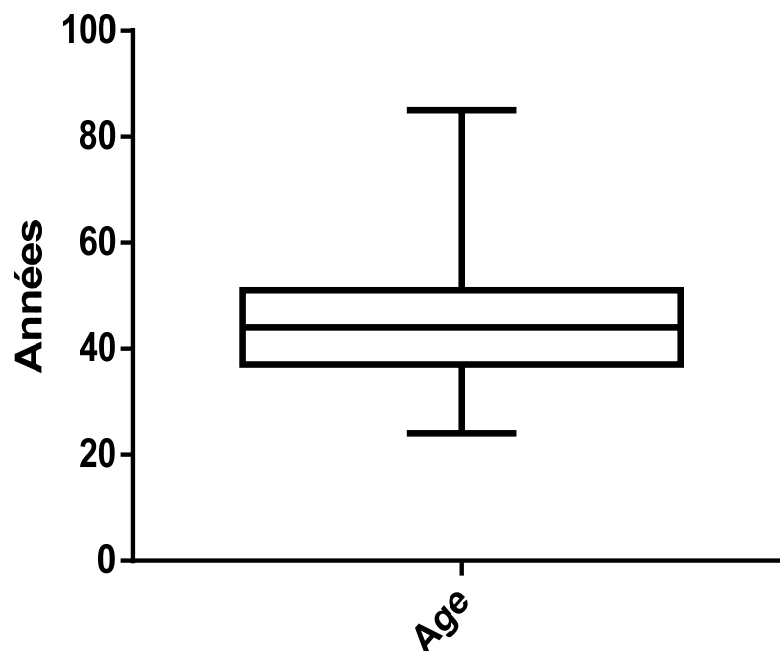


Figure 32. Age moyen des patientes de l'étude

La répartition des patientes selon l'âge est présentée dans la figure 33. Dans notre échantillon, la tranche d'âge avec la fréquence la plus élevée est l'âge entre 40-49 ans avec un taux de 35% (155/444).

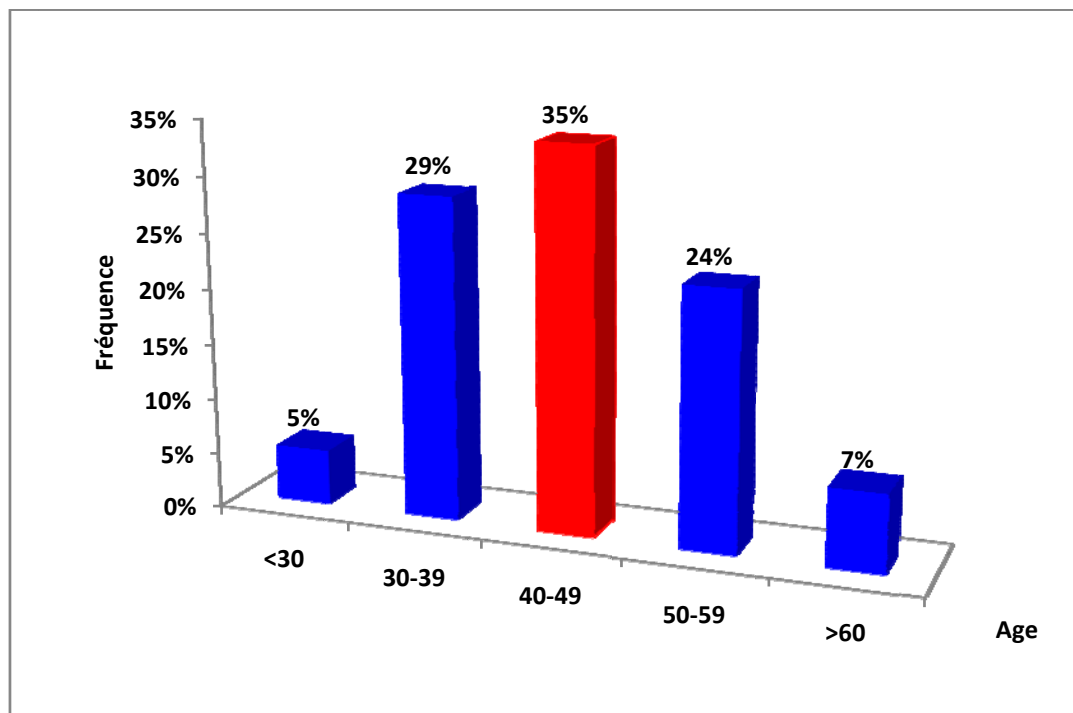


Figure 33. Répartition des patientes selon l'âge, N=444

Tableau 13. Répartition des patientes selon l'âge

	<30	30-39	40-49	50-59	>60	Total
Effectifs	23	127	155	107	32	444
%	5%	29%	35%	24%	7%	100%

IV.1.2.2 Répartition des patientes selon l'anomalie cytologique

Dans la population de l'étude, les résultats des FCU sont répartis comme suit : Sans anomalie, Lésions de Bas Grade, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (LSIL), Lésions de Haut Grade, High grade Squamous Intraepithelial Lesion (HSIL), Atypical glandulaire cells (AGC), et Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US). Les patientes avaient des FCU sans anomalie cytologique dans 74% (329/444) des cas et 1,6% (7/444) des patientes avaient des lésions haut grade (HSIL).

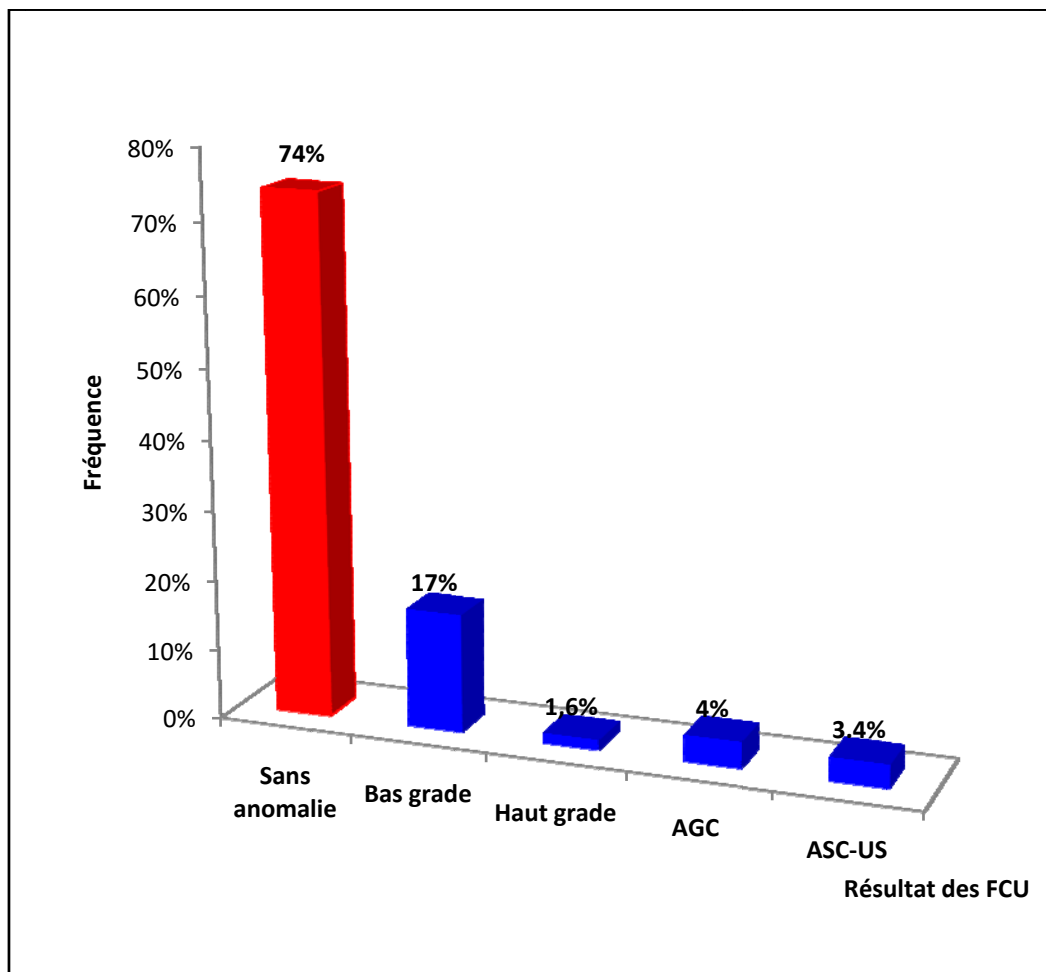


Figure 34. Répartition des patientes selon l’anomalie cytologique, N=444 (AGC : *Atypical glandular cells*, ASC-US : *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*)

Tableau 14. Répartition des patientes selon anomalie cytologique

	Sans anomalie	Bas grade LSIL	Haut grade HSIL	AGC	ASC-US	TOTAL
Effectifs	329	76	7	17	15	444
%	74%	17%	1,6%	4%	3,4%	100%

(LSIL: *Low grade Squamous Intraepithelial Lesion*, HSIL: *High grade Squamous Intraepithelial Lesion*, AGC: *Atypical glandular cells*, ASC-US : *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance*)

IV.1.2.3 Répartition des patientes selon les différents facteurs de risque d'acquisition des HPV à haut grade oncogène

IV.1.2.3.1 Age du premier rapport sexuel

Dans la population de l'étude, nous notons que la moyenne d'âge du premier rapport sexuel (APRS) est de 22,53 ans [11-45], [22,53±4,904, IC à 95%= 22,07-22,98].

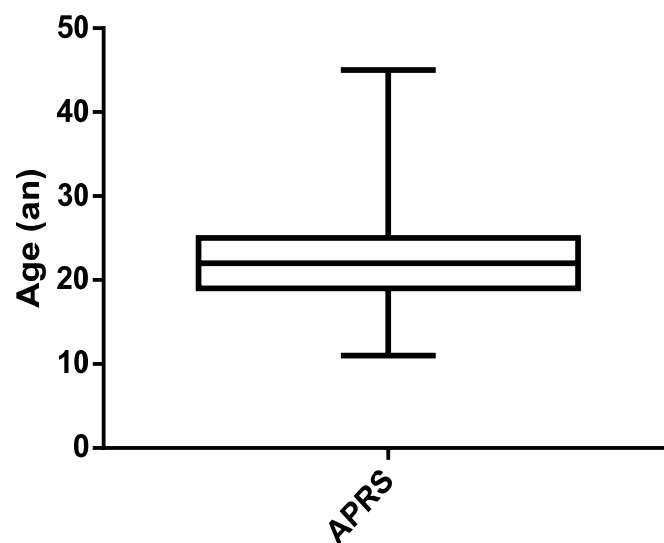


Figure 35. Age moyen du premier rapport sexuel

IV.1.2.3.2 Durée de l'activité sexuelle

Dans la population de l'étude, la répartition des patientes selon la durée de l'activité sexuelle montre que 63.5% (282/444) des patientes prélevées avaient une activité sexuelle de moins de 30ans et que 24.3% (108/444) des patientes avaient une durée d'activité sexuelle de plus de 30 ans.

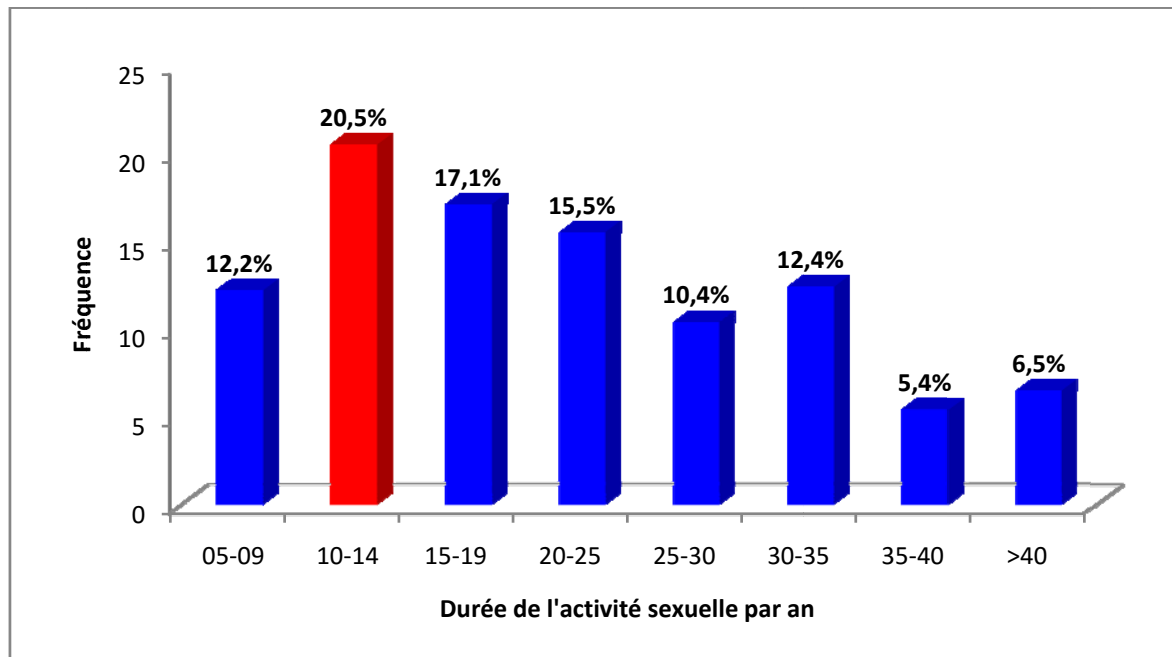


Figure 36. Répartition des patientes selon la durée de l'activité sexuelle, N=444

Tableau 15. Répartition des patientes selon la durée de l'activité sexuelle

	5-9	10-14	15-19	20-25	25-30	30-35	35-40	>40	Total
Effectifs	54	91	76	69	46	55	24	29	444
%	12.2%	20,5%	17.1%	15,5%	10.4%	12.4%	5.4%	6.5%	100%

IV.1.2.3.3 Nombre de Partenaires sexuels

Dans la population de l'étude, nous notons que 7.4 % (33/444) des patientes avait plusieurs partenaires sexuels.

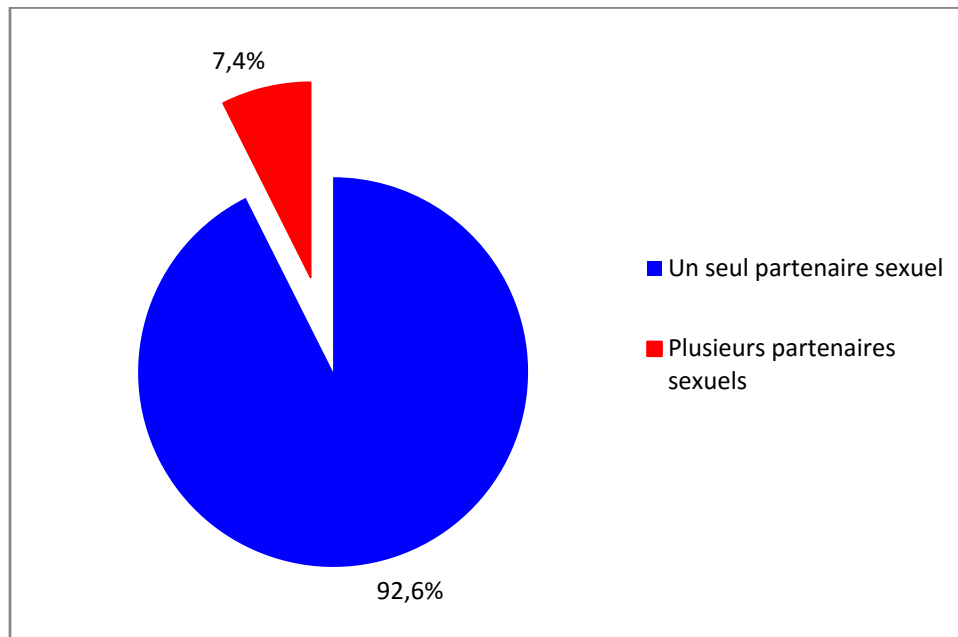


Figure 37. Répartition des patientes selon le nombre partenaires sexuels, N=444

Tableau 16. Répartition des patientes selon le nombre partenaires sexuels

	Un seul partenaire sexuel	Plusieurs partenaires sexuels	Total
Effectifs	411	33	444
%	92.6%	7.4%	100%

IV.1.2.3.4 Nombre de gestation

Dans la population de l'étude, la répartition des patientes selon le nombre de gestation montre dans la figure 38 et le tableau 17 un taux de 84.24% (374/444) de patientes multipares.

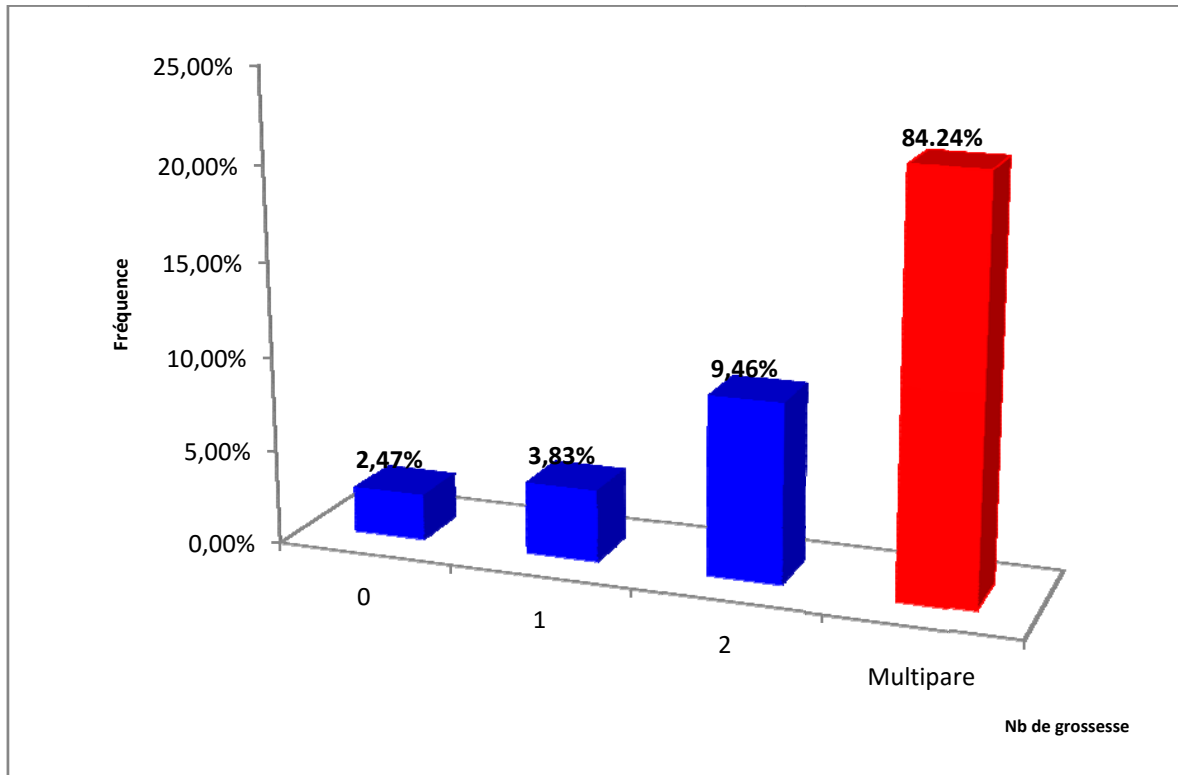


Figure 38. Répartition des patientes selon le nombre de grossesse, N=444

Tableau 17. Répartition des patientes selon le nombre de grossesse

	0	1	2	Mu	Total
Effectifs	11	17	42	374	444
%	2,47%	3,83%	9,46%	84,24%	100%

IV.1.2.3.5 Voie d'accouchement

Dans la population de l'étude, la répartition des patientes selon la voie d'accouchement présentée dans la figure 39 et le tableau 18, montre un taux 96.3% de patientes qui ont accouché par voie basse.

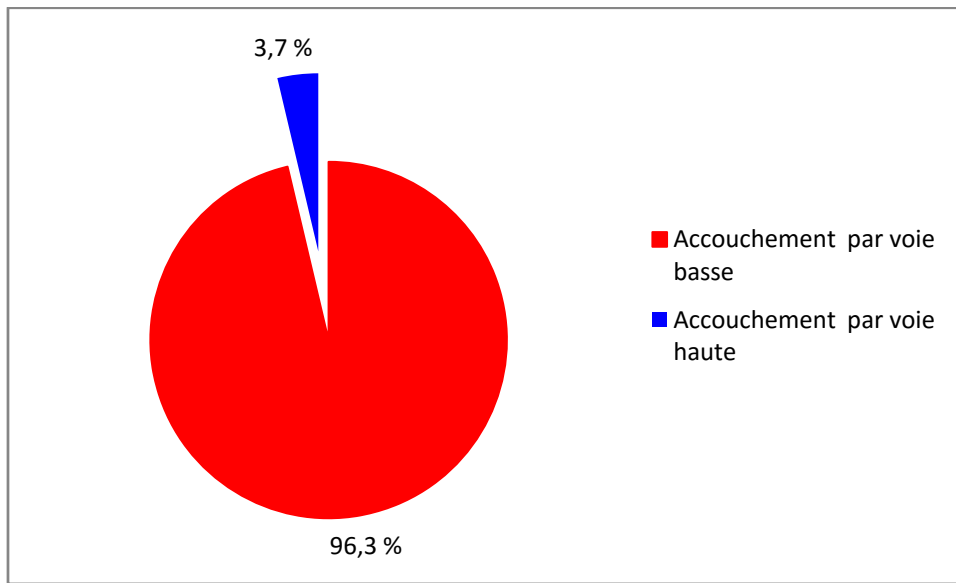


Figure 39. Répartition de patientes selon la voie d'accouchement, N=427*
 *(11 femmes nullipares et 06 femmes n'ont pas mentionné la voie d'accouchement)

Tableau 18. Répartition de patientes selon la voie d'accouchement

	Accouchement par voie basse	Accouchement par voie haute	Total
Effectifs	411	16	427
%	96.3%	3.7%	100%

IV.1.2.3.6 Utilisation de moyens de contraception

Dans la population de l'étude, la répartition des patientes selon l'utilisation de moyens de contraception montre un taux de 63% (279/444) de femmes ayant utilisé un moyen de contraception.

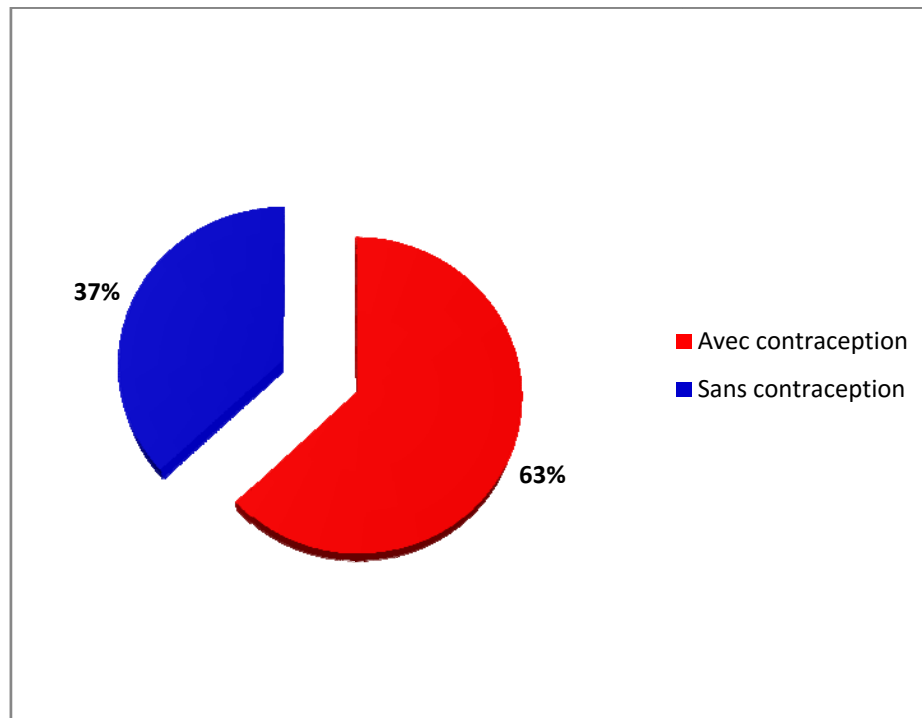


Figure 40. Répartition des femmes selon l'utilisation de moyens de contraception, N=444

Tableau 19. Répartition des femmes selon l'utilisation de moyens de contraception

	%	Effectifs
Avec contraception	63%	279
Sans contraception	37%	165
Total	100%	444

Les moyens de contraception utilisés étaient : la contraception orale, le DIU (Dispositif intra-utérin) et autres moyens. Un taux de 58% (258/444) de femmes qui avaient utilisé la contraception orale et un taux de 13.3% (59/444) des femmes qui avaient utilisé le DIU. La contraception orale était le choix de 92.5% (258/279) des femmes ayant utilisé un moyen de contraception.

Nous notons que sur le total des femmes ayant utilisé les moyens de contraception 13.6% (38/279) des femmes ont utilisé deux moyens de contraception (Contraception orale et DIU).

IV.1.2.3.7 Ménopause

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 29% (127 /444) de femmes qui avaient atteint la ménopause.

Nous signalons que 24 femmes n'avaient pas répondu à la question sur la fiche de renseignements.

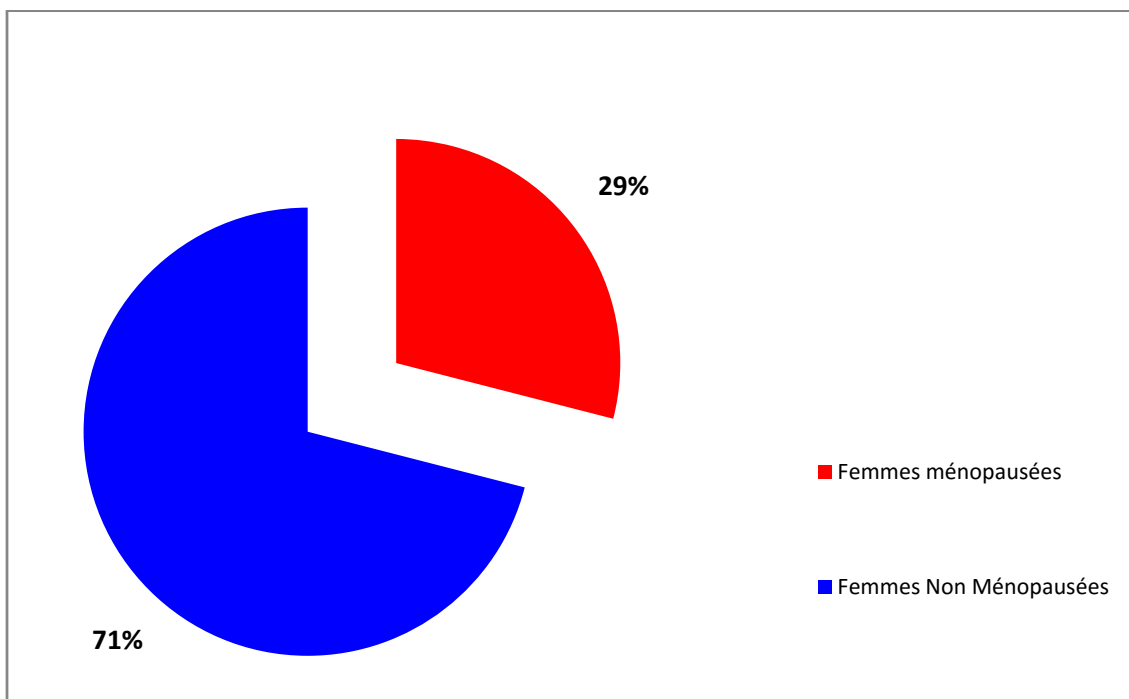


Figure 41. Répartition des patientes selon la ménopause, N=420

Tableau 20. Répartition des patientes selon la ménopause

	%	Pourcentage
Ménopause	29%	127
Non	71%	293
Total	100%	420

IV.1.2.3.8 Notion de pratique de la Piscine

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 12 % (53 /444) de femmes qui se rendaient à la piscine.

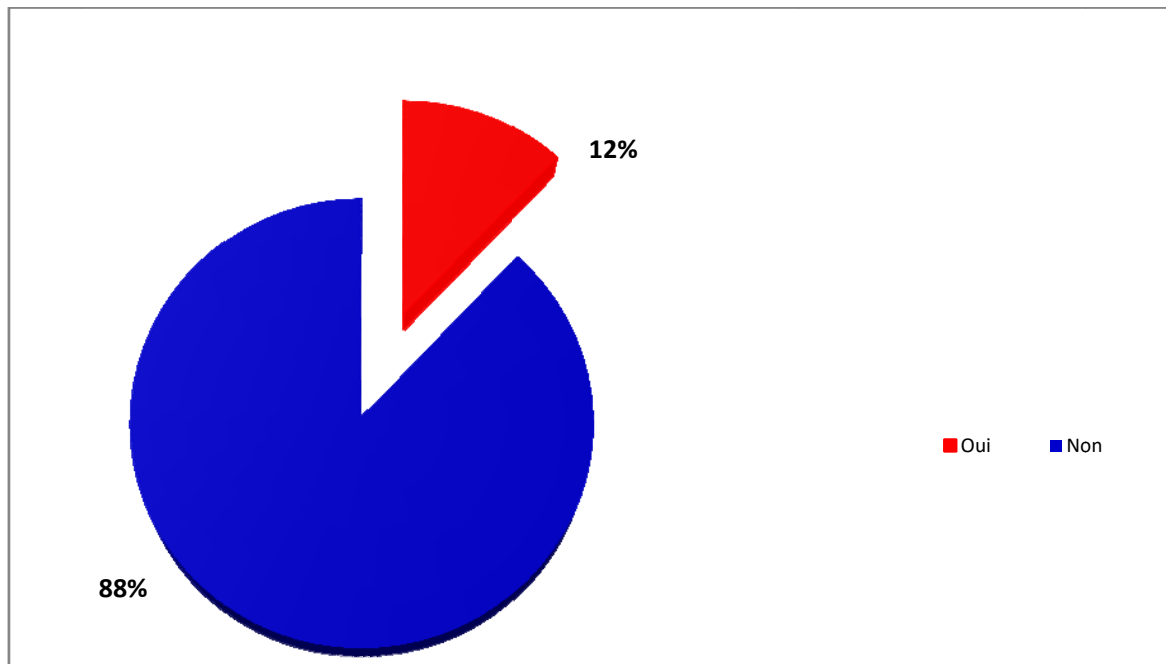


Figure 42. Répartition des patientes selon la notion de pratique de la Piscine, N=444

Tableau 21. Répartition des patientes selon la notion de pratique de la Piscine

	Oui	Non	Total
%	12%	88%	100%
Effectifs	53	391	444

IV.1.2.3.9 Notion de l'utilisation du hammam ou bain

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 16 % (71 /444) de femmes qui utilisaient le bain (Hammam).

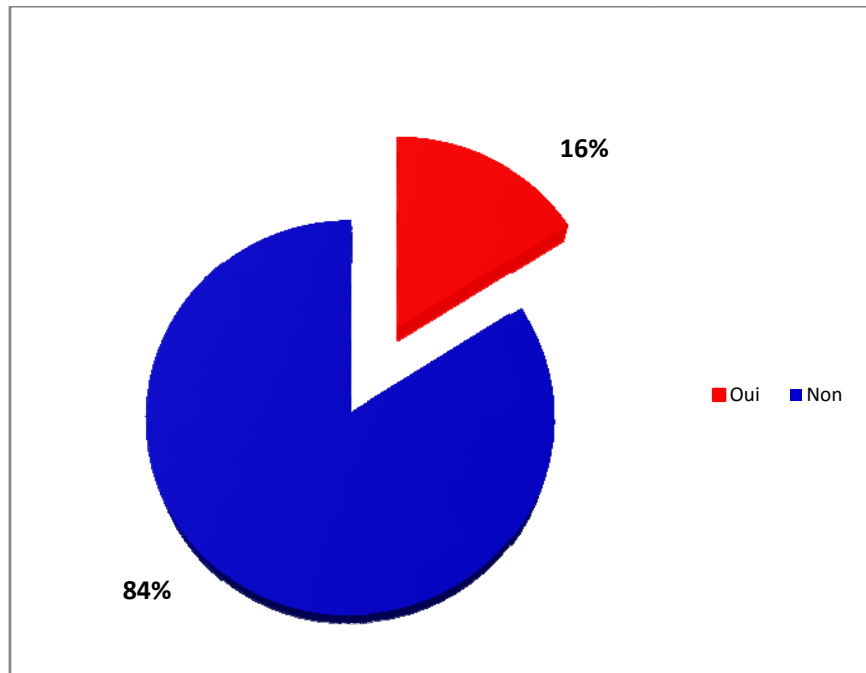


Figure 43. Répartition des patientes selon la notion de l'utilisation du hammam ou bain, N=444

Tableau 22. Répartition des patientes selon la notion de l'utilisation du hammam ou bain

	Oui	Non	Total
%	16%	84%	100%
Effectifs	71	373	444

IV.1.2.3.10 Tabagisme

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 22,5% (100 /444) de femmes qui sont exposées au tabagisme (98% (98/100) tabagisme passif et 2% (2/100) tabagisme actif).

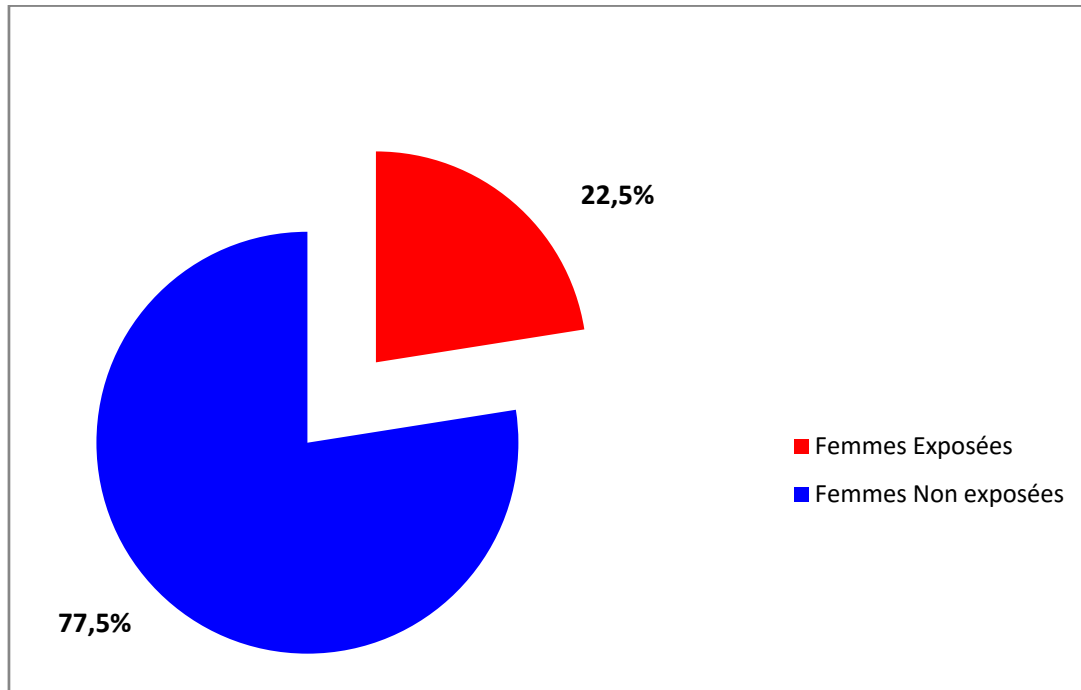


Figure 44. Répartition des patientes selon le tabagisme, N=444

Tableau 23. Répartition des patientes selon le tabagisme

	%	Effectifs
Exposées	22,50%	100
Non exposées	77,50%	344
Total	100%	444

IV.1.2.3.11 Utilisation de l'échographie endovaginale

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 47 % (209 /444) de femmes qui étaient exposées à l'utilisation de l'échographie endovaginale.

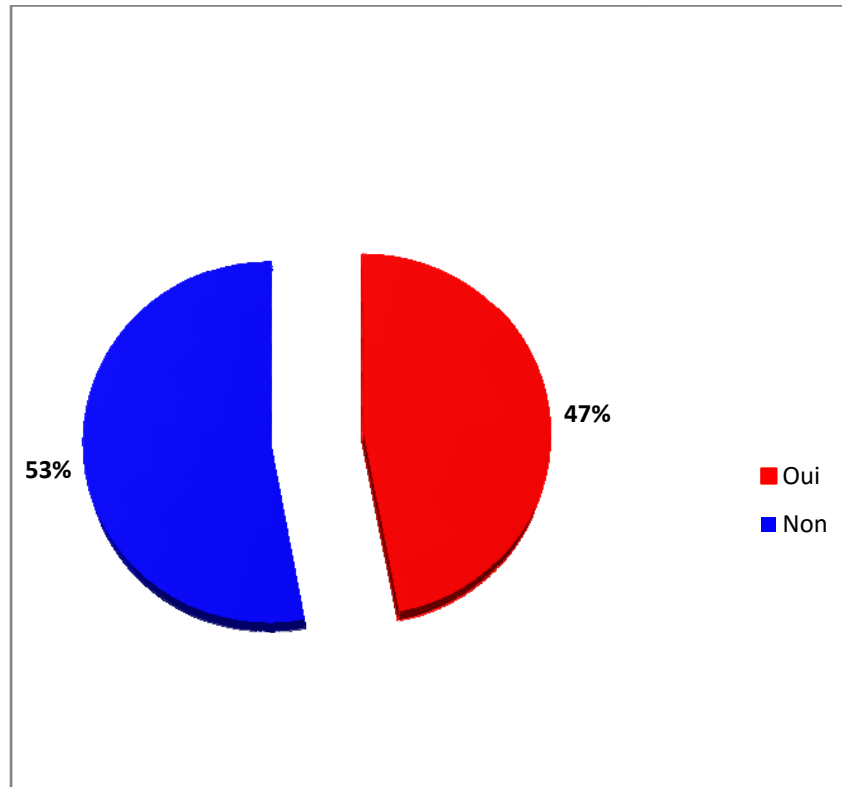


Figure 45. Répartition des patientes selon l'utilisation de l'échographie endovaginale, N=444

Tableau 24. Répartition des patientes selon l'utilisation de l'échographie endovaginale

	Oui	Non	Total
%	47%	53%	100%
Effectifs	209	235	444

IV.1.2.3.12 Antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus

Dans la population de l'étude, nous notons, un taux de 7 % (31 /444) de femmes qui avaient des antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus.

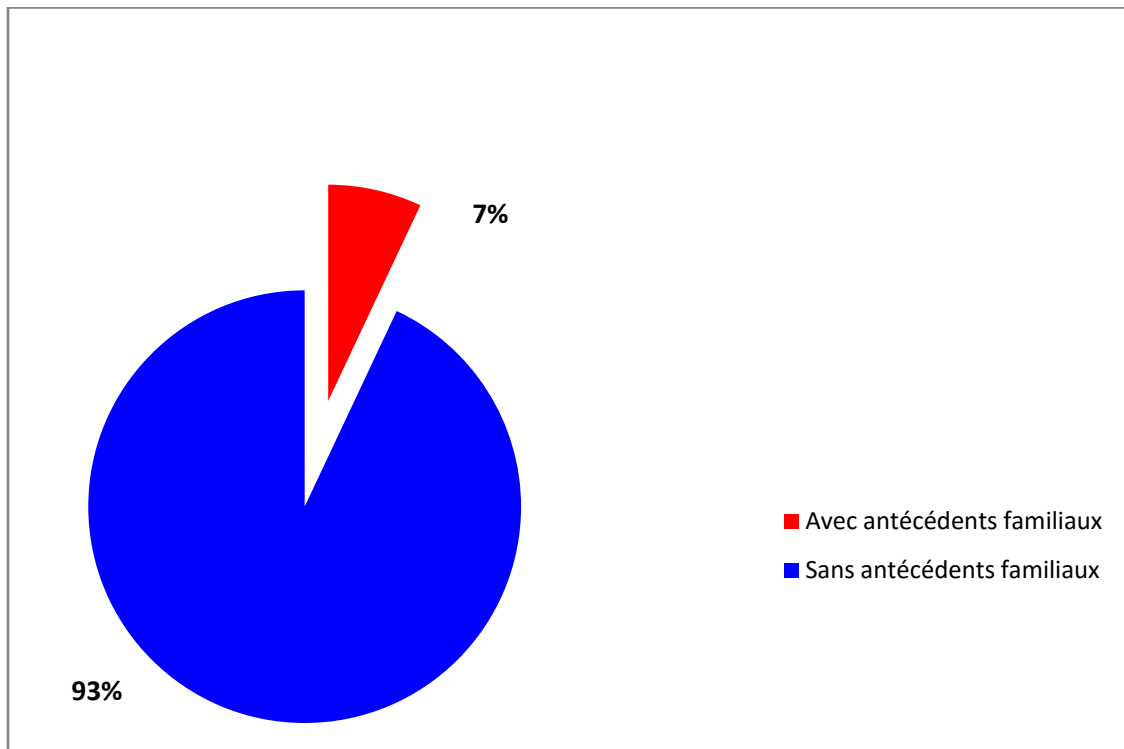


Figure 46. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus, N=444

Tableau 25. Répartition des patientes selon les antécédents familiaux de cancer du col de l'utérus

	Avec antécédents familiaux	Sans antécédents familiaux	Total
%	7%	93%	100%
Effectifs	31	413	444

IV.2 Prévalence des HPV à haut risque oncogène de cancer du col de l'utérus

Dans notre étude, la prévalence des patientes HPV à haut risque positives dans la Wilaya de Blida est de 3% (13 /444).

Huit différents génotypes de HPV-HR sont retrouvés : HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45, HPV 52, HPV 56, HPV66 et HPV 68.

Deux (2) patientes sur 13 avaient une infection avec plusieurs génotypes HPV-HR.

Un total de 15 génotypes HPV-HR est retrouvé. La répartition des génotypes HPV-HR de l'étude est comme suit : HPV 16 (4), HPV 45 (3), HPV 52 (2), HPV66 (2), HPV 18 (1), HPV 31 (1) HPV 56 (1) et HPV 68 (1).

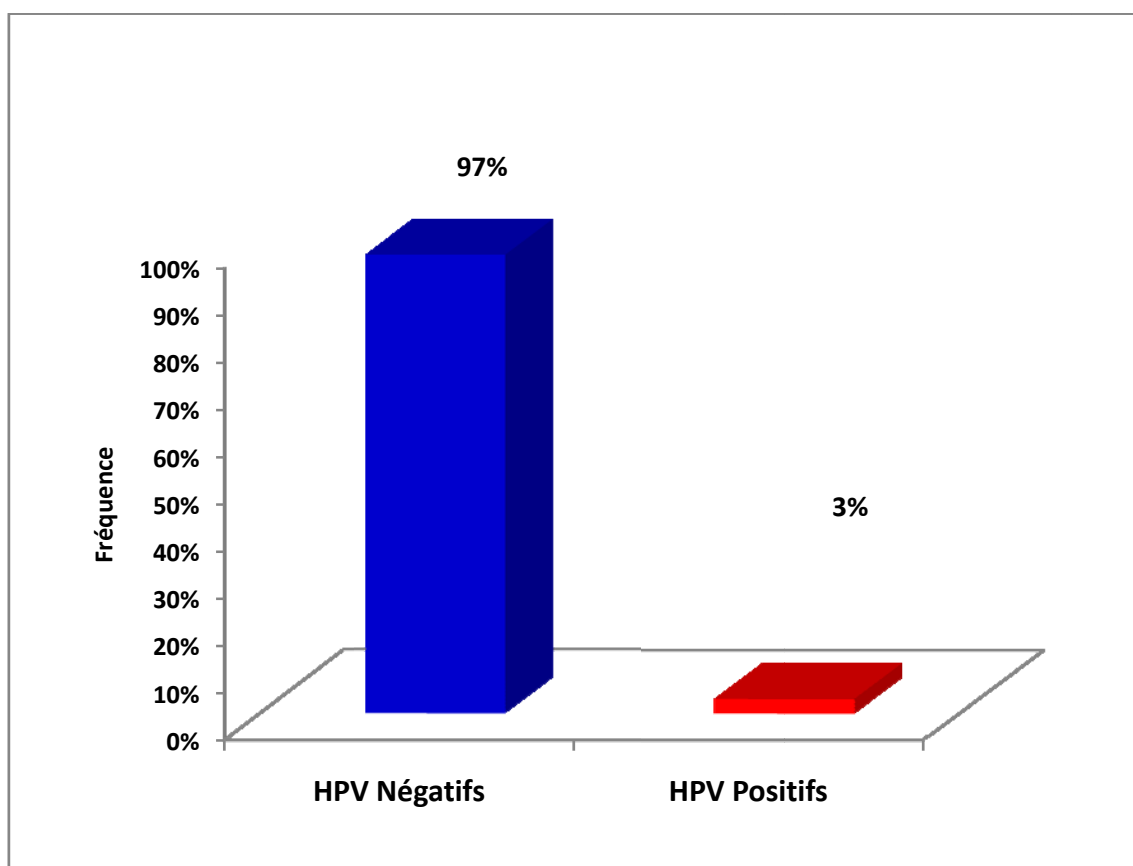


Figure 47. Prévalence des HPV à haut risque chez les femmes de la Wilaya de Blida, N=444

La répartition des HPV à haut risque selon la Commune de résidence montre une prédominance de patientes positives à Blida 7/13 suivi de Ouled Yaiche 3/13, Beni Merad 2/13 et Beni Tamou 1/13.

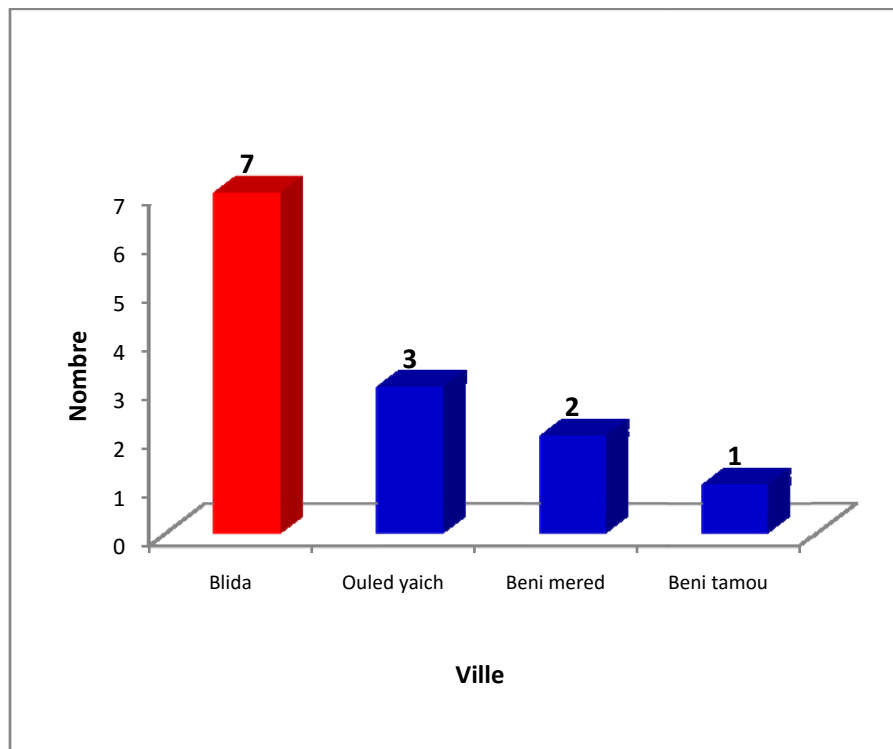


Figure 48. Répartition des HPV à haut risque selon la Commune de résidence, N=444

IV.3 Distribution des HPV-HR selon l'âge

Dans la population de l'étude, nous ne retrouvons pas une différence statistiquement significative selon l'âge chez les patientes HPV à haut risque positives et les patientes HPV à haut risque négatives [Négatif vs positif: moyenne d'âge $44,32 \pm 10,02$ vs $45,31 \pm 10,41$, $p=0,636$].

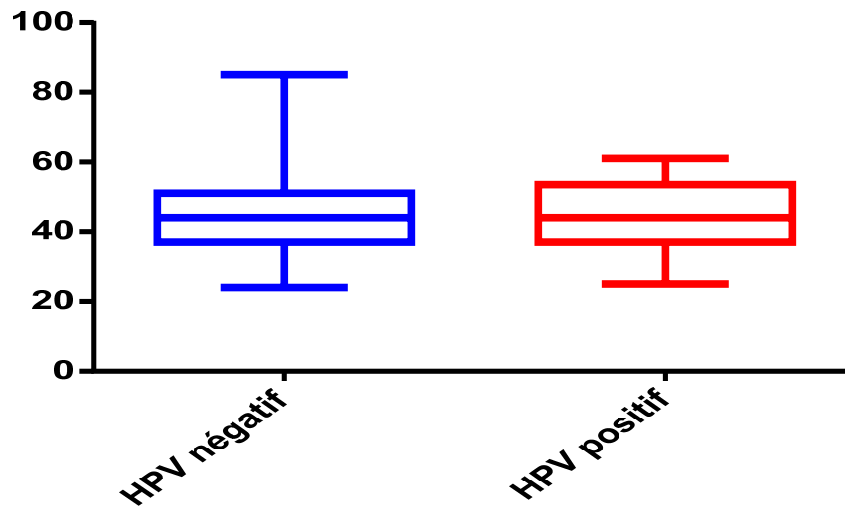


Figure 49. Différence de la moyenne d'âge entre les patientes HPV-HR positives et HPV-HR négatives

La répartition des patientes HPV-HR positives selon l'âge montre une prédominance des HPV à haut risque dans la tranche d'âge [40-49 ans] avec 5/13 HPV positifs (HPV 16, HPV 18, HPV45, HPV68, HPV56 et HPV52) suivi de la tranche d'âge [30-39 ans] avec 3/13 (HPV 16, HPV66 et HPV45), 2/13 dans la tranche [50-59 ans] (HPV16 et HPV31) et 2/13 dans la tranche d'âge >60 ans (HPV 45, HPV 56 et HPV66).

IV.4 Distribution des HPV à haut risque selon l'anomalie cytologique

Dans la population de l'étude, la répartition des HPV à haut risque selon l'anomalie cytologique des FCU montre une prédominance des HPV à haut risque chez les femmes avec un FCU sans anomalie cytologique 5/13, suivi de FCU avec des lésions bas grade (*Low grade Squamous Intraepithelial Lesion*, LSIL) 3/13, FCU avec des lésions haut grade (*High grade Squamous Intraepithelial Lesion*, HSIL), FCU avec des anomalies glandulaires atypiques (*Atypical glandular cells*, AGC) 2/13 et FCU classé *Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance* (ASC-US) 1/13.

La distribution des génotypes HPV-HR chez les femmes de la Wilaya de Blida selon l'anomalie cytologique est la suivante : FCU sans anomalie (HPV 16 et HPV 66), LSIL (HPV45, HPV56, HPV52 et HPV68), HSIL (HPV16 et HPV45), AGC (HPV 18 et HPV 31) et ASC-US (HPV56).

Dans la population de l'étude, nous retrouvons que, la présence de lésion de haut grade (HSIL) est fortement liée à la présence de HPV-HR avec une différence statistiquement significative [OR= 15.49, $p < 0.005$ et IC95% : 18.5% - 28.1%], Et que, l'absence d'anomalie cytologique est liée à l'absence HPV-HR avec une différence statistiquement significative [OR=0.16, $p < 0.008$ et IC95% : 16.5% -29.1%] (même si cinq (5) patientes HPV-HR positives sur 13 avaient un FCU sans anomalie cytologique).

Tableau 26. Comparaison entre les patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'anomalie cytologique

cytologie	HPV Positif N = 13 (%)	HPV Négatif N = 431 (%)	P	OR	IC à 95%
Sans anomalie	05 (38.46%)	324 (75.17%)	0.008	0,16	16.5% -29.1%
Lésions Bas grade (LSIL)	03 (23.08%)	73 (16.94%)	0.837	-	-
Lésion Haut grade (HSIL)	02 (15.38%)	05 (1.160%)	$3.4 \cdot 10^{-3}$	15.49	18.5% - 28.1%
AGC	02 (15.38%)	15 (4.176%)	0.215	-	-
ASC-US	01 (7.692%)	14 (3.248%)	0.925	-	-

(LSIL: Low grade Squamous Intraepithelial Lesion, HSIL: High grade Squamous Intraepithelial Lesion, AGC: Atypical glandular cells, ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance)

Tableau 27. Caractéristiques des patientes porteuses de HPV-HR

	P01	P02	P 03	P04	P05	P06	P 07	P08	P 09	P10	P11	P12	P13
Age (ans)	37	60	50	43	35	44	37	48	57	61	48	44	25
HPV-HR	HPV 66	HPV 45, HPV56	HPV 31	HPV 52, HPV 68	HPV 16	HPV 18	HPV 45	HPV 56	HPV 16	HPV 66	HPV 45	HPV 16	HPV 16
IMI	NON	OUI	NON	OUI	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Cytologie	SA	LSIL	AGC	LSIL	SA	AGC	HSIL	ASC-US	HSIL	SA	LSIL	SA	SA
Résidence	BLIDA	BLIDA	O. YAICHE	B.MERAD	O. YAICHE	BLIDA	BLIDA	O.YAICHE	BLIDA	B.MERAD	B. TAMOU	BLIDA	BLIDA
Fonction	NON	NON	OUI	OUI	OUI	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
APRS	18	16	18	19	22	19	25	24	25	15	21	19	20
DAS	20	8	8	24	13	23	12	1	32	45	28	16	5
NPS	1	1	2	3	1	1	1	2	3	2	1	1	1
Gestation	4	8	4	7	3	6	2	2	10	6	0	5	0
Parité	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	BASSE	/	BASSE	/
CO	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	NON	NON	NON	NON
DIU	/	/	NON	/	/	/	NON	NON	NON	/	/	/	/
Ménopause	NON	OUI	NON	NON	NON	NON	NON	OUI	OUI	OUI	NON	NON	NON
Piscine	OUI	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Hamмам	NON	NON	NON	NON	NON	OUI	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON	NON
Tabagisme	PASSIF	NON	PASSIF	ACTIF	NON	PASSIF	NON	NON	PASSIF	NON	NON	NON	NON
EEV	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	NON	OUI	OUI	NON	NON	NON	OUI
AFCCU	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	NON	OUI	NON

(P : Patiente, HPV-HR : Papillomavirus Humain à haut risque, IM : Infection Multiple, SA : Sans anomalie, LSIL: Low grade Squamous Intraepithelial Lesion, HSIL: High grade Squamous Intraepithelial Lesion, AGC: Atypical glandular cells, ASC-US: Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance, NSE : Niveau Socio-Economique, APRS : Age du Premier Rapport Sexuel, DAS : Durée d'activité Sexuelle, NPS : Nombre de Partenaire Sexuel, CO : Contraception Orale, DIU : Dispositif Intra-Utérin, EEV : Echographie Endovaginale, AFCCU : Antécédents Familiaux du Cancer du Col de l'utérus, / : non mentionné)

IV.5 Distribution des HPV à haut risque selon les facteurs de risque

IV.5.1 Age du premier rapport sexuel

Dans la population de l'étude, la moyenne d'âge du premier rapport sexuel est de 22 ans pour les femmes HPV-HR négatives et de 20 ans pour les femmes HPV-HR positives. La comparaison des âges du début de l'activité sexuelle des femmes HPV positives et des femmes HPV négatives n'a pas montré de différence significative, [Négatif vs positif : $22,60 \pm 4,930$ vs $20,08 \pm 3,201$, $p=0,06$].

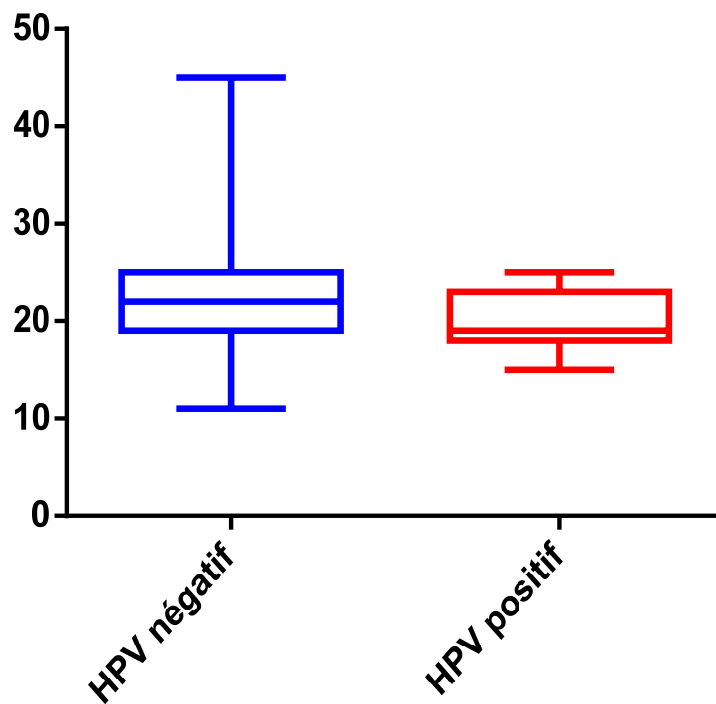


Figure 50. Comparaison des âges du début de l'activité sexuelle des femmes HPV positives et des femmes HPV négatives

IV.5.2 Durée de l'activité sexuelle

Dans la population de l'étude, la moyenne de la durée de l'activité sexuelle est de 21 ans pour les femmes HPV-HR négatives et de 23 ans pour les femmes HPV-HR positives. La comparaison de la durée de l'activité sexuelle chez les femmes HPV positives et les femmes HPV négatives n'a pas montré de différence significative, [Négatif vs positif : $21,15 \pm 10,78$ vs $22,62 \pm 12,45$, $p=0,720$].

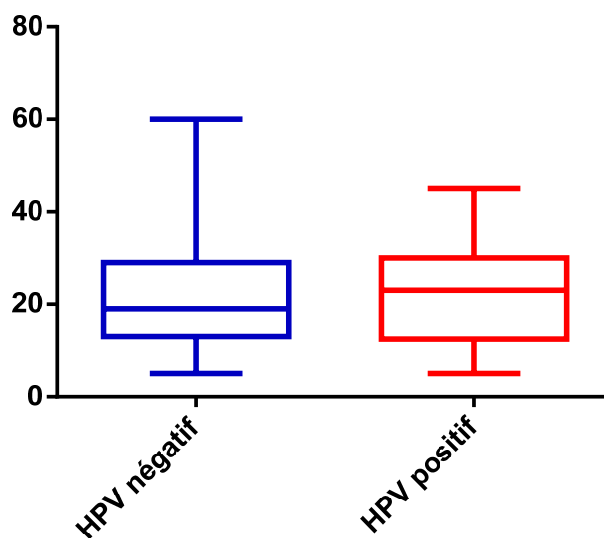


Figure 51. Comparaison de la durée de l'activité sexuelle des femmes HPV positives et des femmes HPV négatives

IV.5.3 Nombre de partenaires sexuels

Dans la population de l'étude, la présence de plusieurs partenaires sexuels est un facteur de risque d'acquisition du HPV à haut risque avec une différence statistiquement significative entre les femmes HPV-HR positives et les femmes HPV-HR négatives [OR= 6.16, IC à 95%= 5.7% - 11.0%, $p<0.007$]. Ainsi, les femmes avec plusieurs partenaires sexuels ont 6 fois plus de risque d'acquies une infection à HPV-HR (Tableau 28).

Dans notre étude, les femmes avec un seul partenaire sexuel ne sont pas à risque d'acquies le HPV-HR avec une différence statistiquement significative [OR= 0.16, IC à 95%= 3.4 - 26.9%, $p<6.5 \cdot 10^{-3}$] (Tableau 28).

Tableau 28. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon le nombre de partenaires sexuels

Nombre de partenaire	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P	OR	IC à 95%
Partenaire unique	9 (69.23%)	402 (93.27%)	$6.5 \cdot 10^{-3}$	0.16	3.4 - 26.9%
Partenaire multiple	4 (30.77%)	29 (6.729%)	0.007	6.16	5.7% - 11.0%

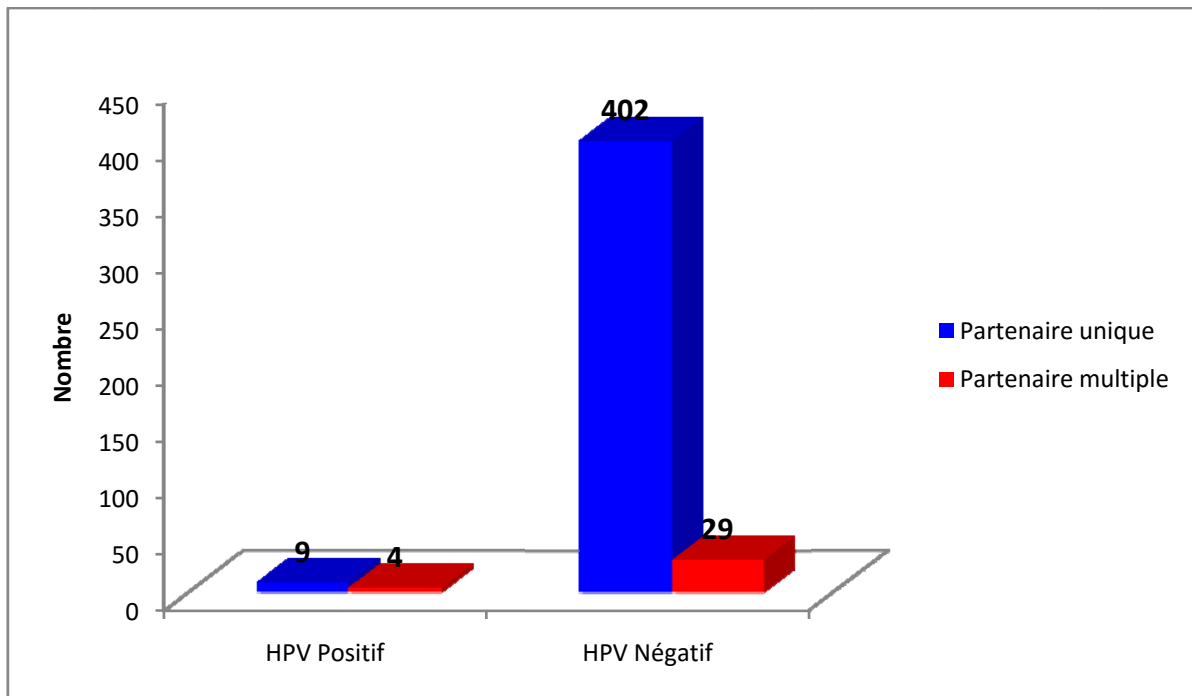


Figure 52. Distribution des HPV à haut risque selon le nombre de partenaires sexuels, N=444

IV.5.4 Nombre de gestations

Dans notre étude, la femme nullipare présente un risque d'acquisition du HPV à haut risque avec une différence statistiquement significative entre les femmes HPV-HR positives et les femmes HPV-HR négatives [OR=8.53, p<0.03, IC à 95%= 7.9% - 17.6%]. Ainsi, les femmes nullipares ont 8 fois plus de risque d'avoir une infection à HPV-HR (Tableau 29).

Tableau 29. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon le nombre de gestation

Nombre de gestation	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P	OR	IC à 95%
0	2 (15.38%)	9 (2.088%)	0.033	8.53	7.9% - 17.6%
1	0 (0%)	39 (9.05%)	0.509	-	-
2	2 (15.38%)	40 (9.281%)	0.795	-	-
≥3	9 (69.23%)	365 (84.69%)	0.263	-	-

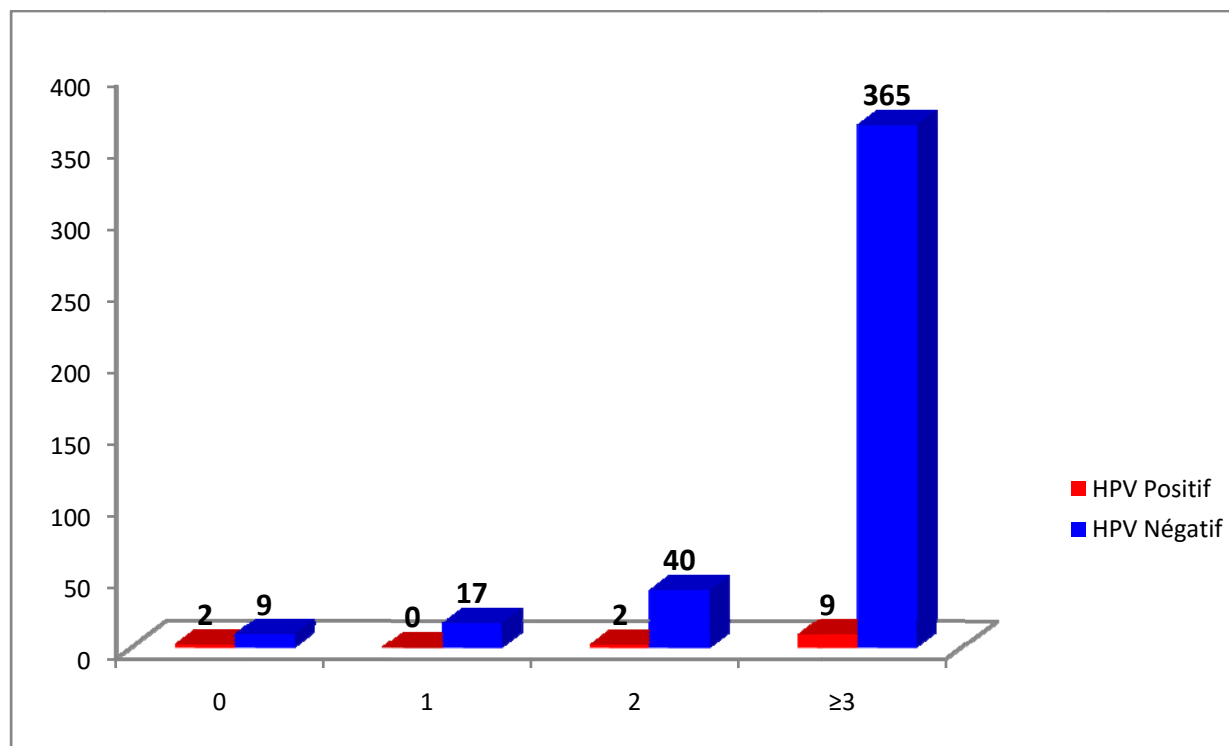


Figure 53. Distribution des HPV à haut risque selon le nombre de gestation, N=444

IV.5.5 Voie d'accouchement

Dans la population de l'étude, la voie d'accouchement chez les femmes HPV-HR positives et les femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 30).

Tableau 30. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la voie d'accouchement

Voie d'Accouchement	HPV Positif N=11	HPV Négatif N=416	P
Basse	11 (322%)	400 (; 8087%)	0.567
Haute	00 (0%)	16 *50 68' +	1.000

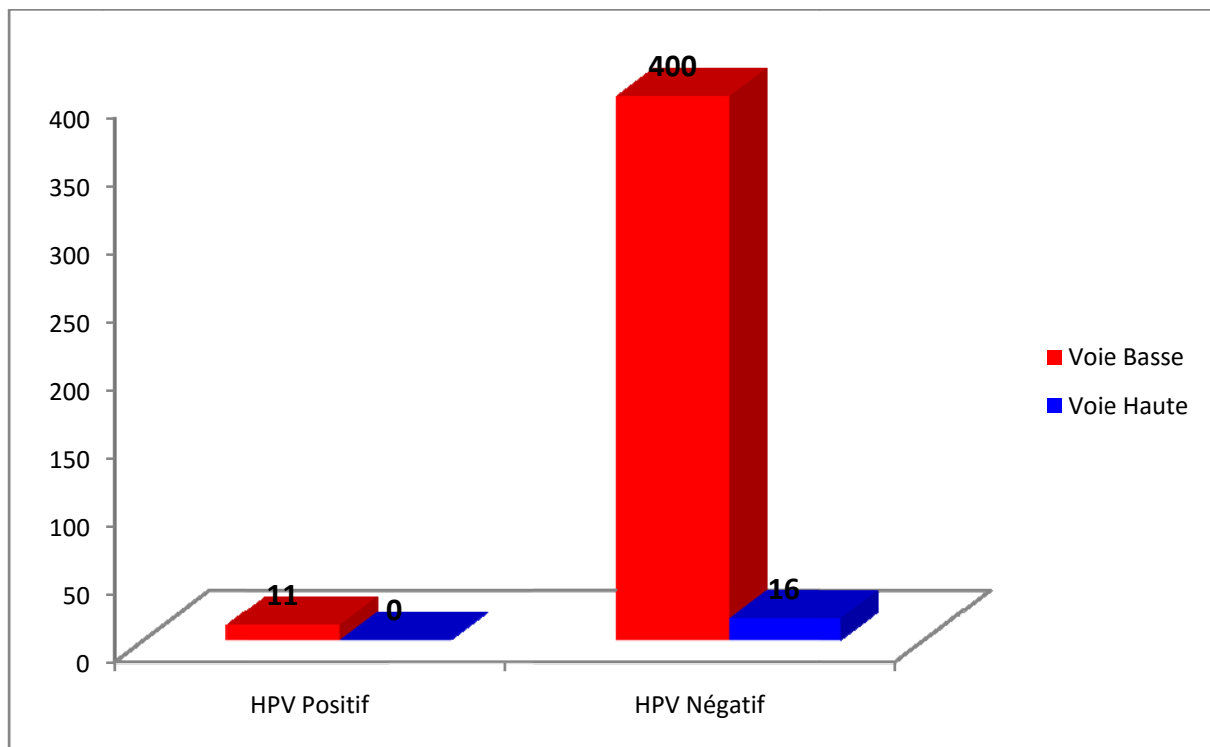


Figure 54. Distribution des HPV à haut risque selon la voie d'accouchement, N=427*

**(11 femmes nullipares et 06 femmes n'avaient pas mentionné la voie d'accouchement)*

IV.5.6 Utilisation de moyens de Contraception

Dans la population de l'étude, la prise de contraception chez les femmes HPV-HR positives et les femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 31).

Tableau 31. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la prise de contraception

Contraception	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Oui	0 (2%)	27; 6,2% +	1.000
Non	2; 15,4% +	29; 6,7% +	1.000

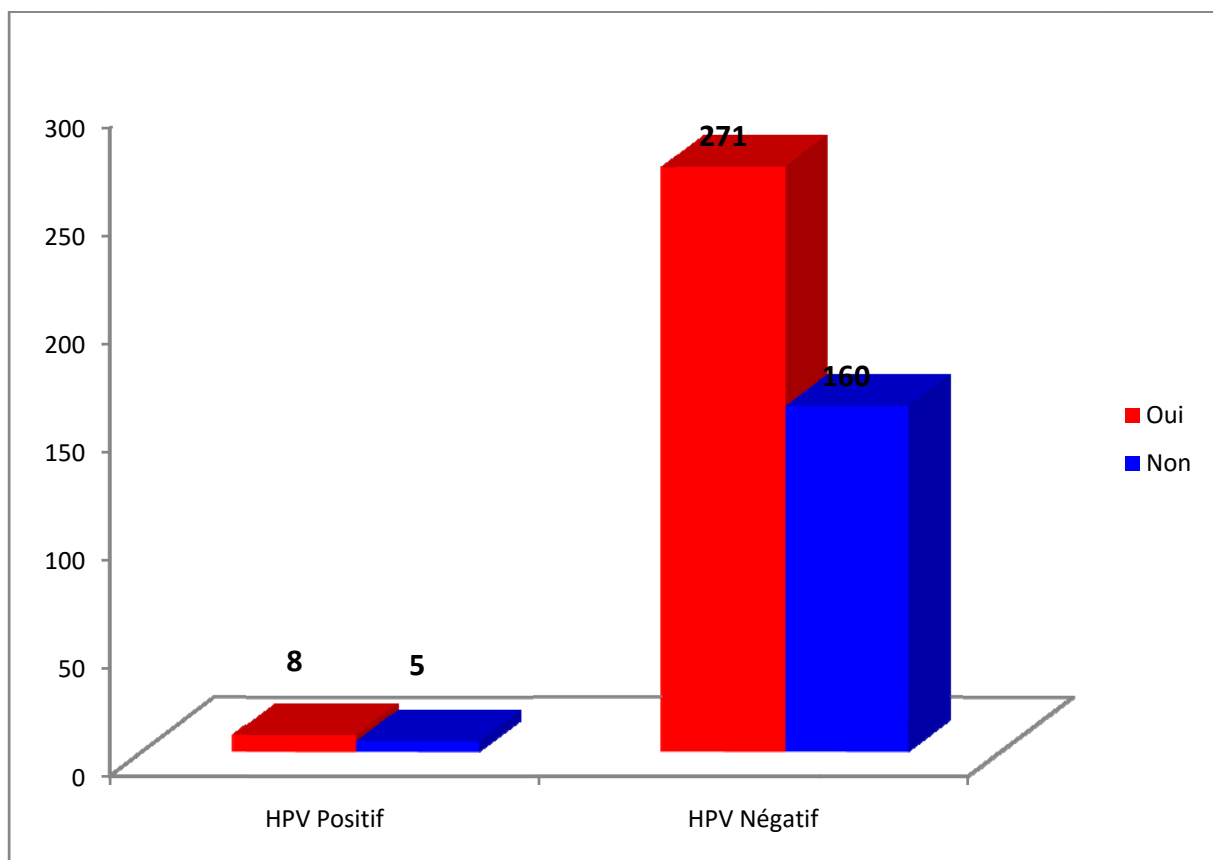


Figure 55. Distribution des HPV à haut risque selon la prise de contraception, N=444

IV.5.6.1 Utilisation de Contraception orale

Dans la population de l'étude, l'utilisation de la contraception orale chez les femmes HPV-HR positives et les femmes HPV-HR négatives et n'a pas montré de différence significative (Tableau 32).

Tableau 32. Comparaison des patientes HPV positives et patientes HPV négatives selon la prise de contraception orale

Contra Orale	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Oui	08 (61.54%)	345 (80.04) +	1.000
Non	05 (38.46%)	4: 6 (1.38; 09) +	1.000

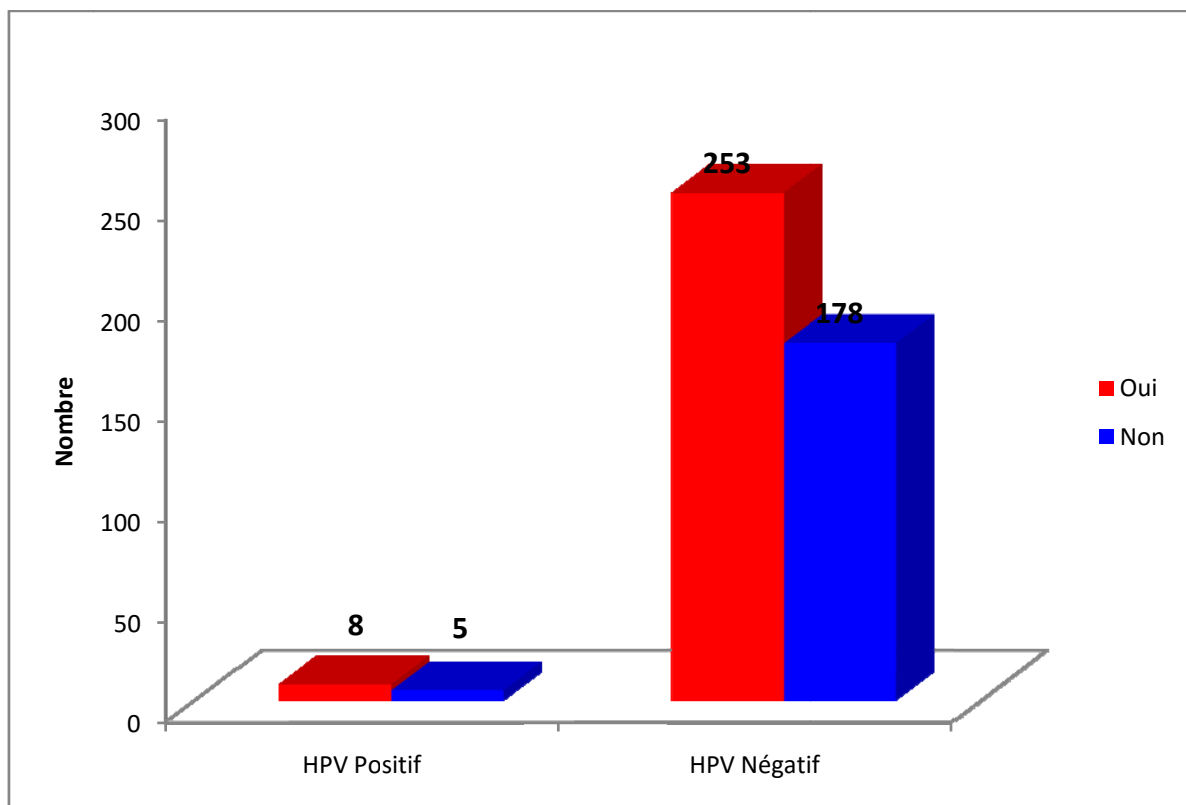


Figure 56. Distribution des HPV à haut risque selon la prise de contraception orale, N=444

IV.5.6.2 Utilisation du dispositif intra-utérin

Le nombre de femmes ayant répondu à la question sur l'utilisation du DIU comme moyen de contraception est de 74 femmes. On note que 5 patientes positives à HPV-HR n'avaient pas mentionné l'utilisation du DIU.

Dans notre étude, l'utilisation DIU comme moyen de contraception n'est pas liée à la présence de HPV-HR avec une différence statistiquement significative [OR=0.00, $p=8.5.10^{-7}$, IC95% : 0.000- 0.093] (Tableau 33).

Tableau 33. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation du DIU

DIU	HPV Positif N=8	HPV Négatif N=66	P	OR	IC à 95%
Oui	0 (0%)	59 (89.40%)	$8.5.10^{-7}$	0,00	0.000- 0.093
Non	08 (100%)	07 (10.60%)	0.5333	-	-

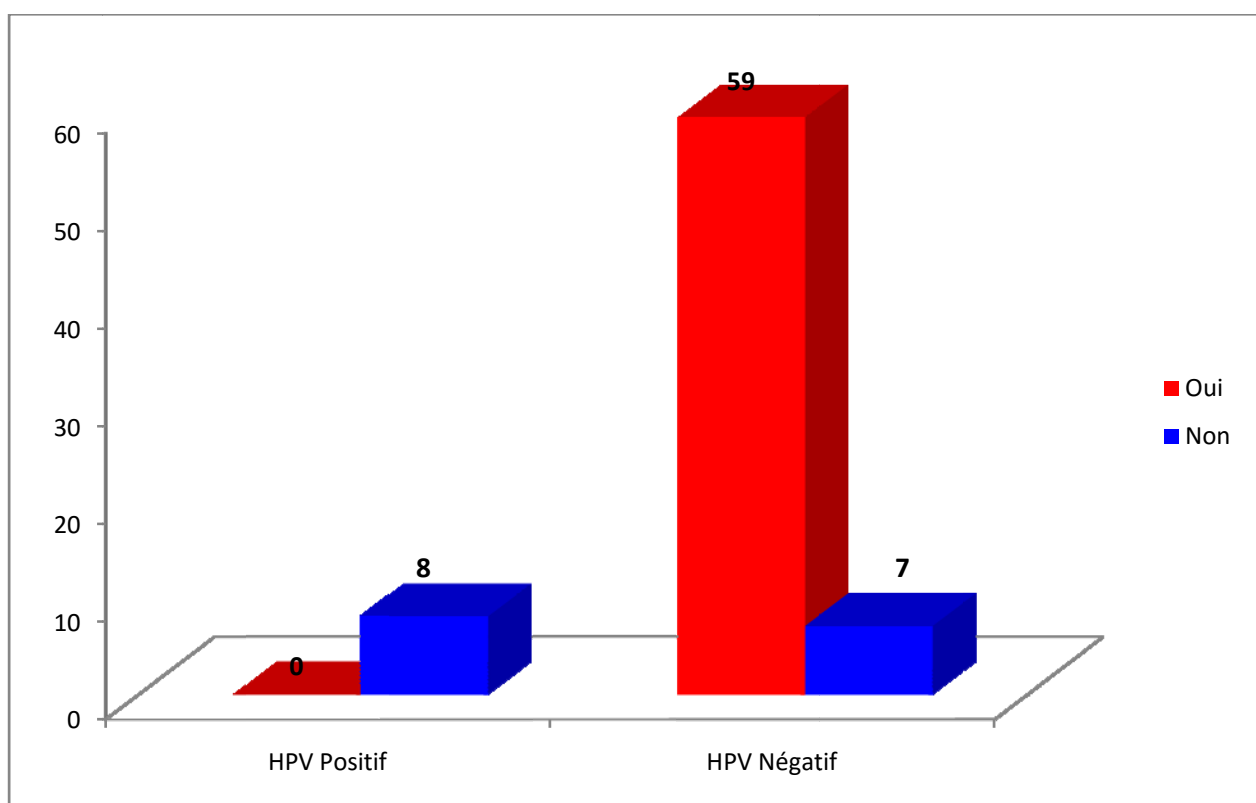


Figure 57. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation du DIU, N=74

IV.5.6.3 Durée de la contraception

Dans la population de l'étude, la moyenne de la durée de la contraception chez les femmes HPV-HR positives est de 12.5 ans et de 6 ans chez les femmes HPV-HR négatives. La comparaison de la durée de la contraception entre les femmes HPV-HR positives et femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative. [$9,281 \pm 7,266$ vs $11,00 \pm 8,106$, $P = 0,6819$].

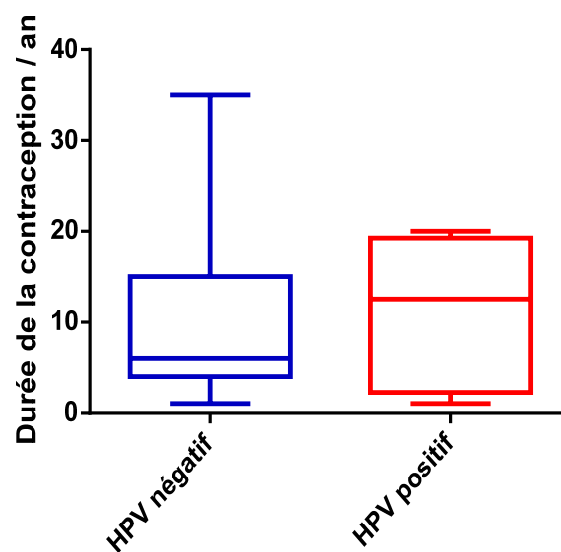


Figure 58. Comparaison de la durée de contraception chez les femmes HPV positive et les patientes HPV négatives

IV.5.7 Ménopause

Dans la population de l'étude, la comparaison des femmes HPV-HR positives et des femmes HPV-HR négatives selon la ménopause n'a pas montré de différence significative (Tableau 34).

On note que 24 femmes n'avaient pas répondu à la question de la ménopause sur la fiche de renseignements.

Tableau 34. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la ménopause

Ménopause	HPV Positif N=13	HPV Négatif N=407	P
Patientes ménopausées	04 (30.77%)	123 (30.22%)	1.000
Patientes non ménopausées	09 (69.23%)	284 (69.77%)	0.977

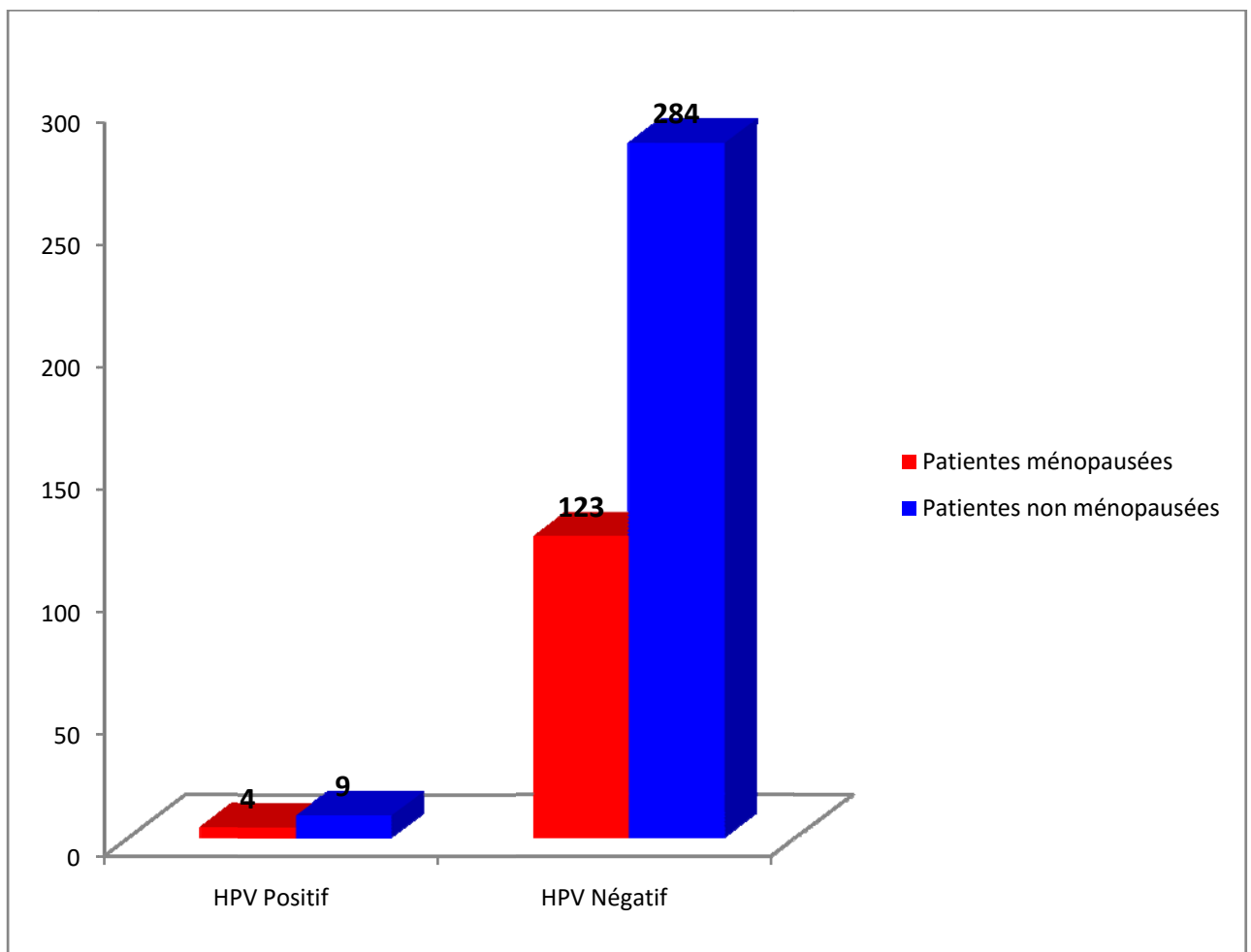


Figure 59. Distribution des HPV à haut risque selon la ménopause, N=420

IV.5.8 Notion de pratique de Piscine

Dans la population de l'étude, la notion de pratique de Piscine n'est pas liée à la présence de HPV-HR, avec une différence statistiquement significative [OR=0.07, p<0.0001, IC95% : 41.4 - 59.8] (Tableau 35).

Tableau 35. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon la notion de pratique de Piscine

Piscine	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 467	P	OR	IC à 95%
Oui	1 (7.692%)	52 (43.44%)	0.964	-	-
Non	12 (92.31%)	193 (9: .79%)	0.002	0.07	41.4 - 59.8

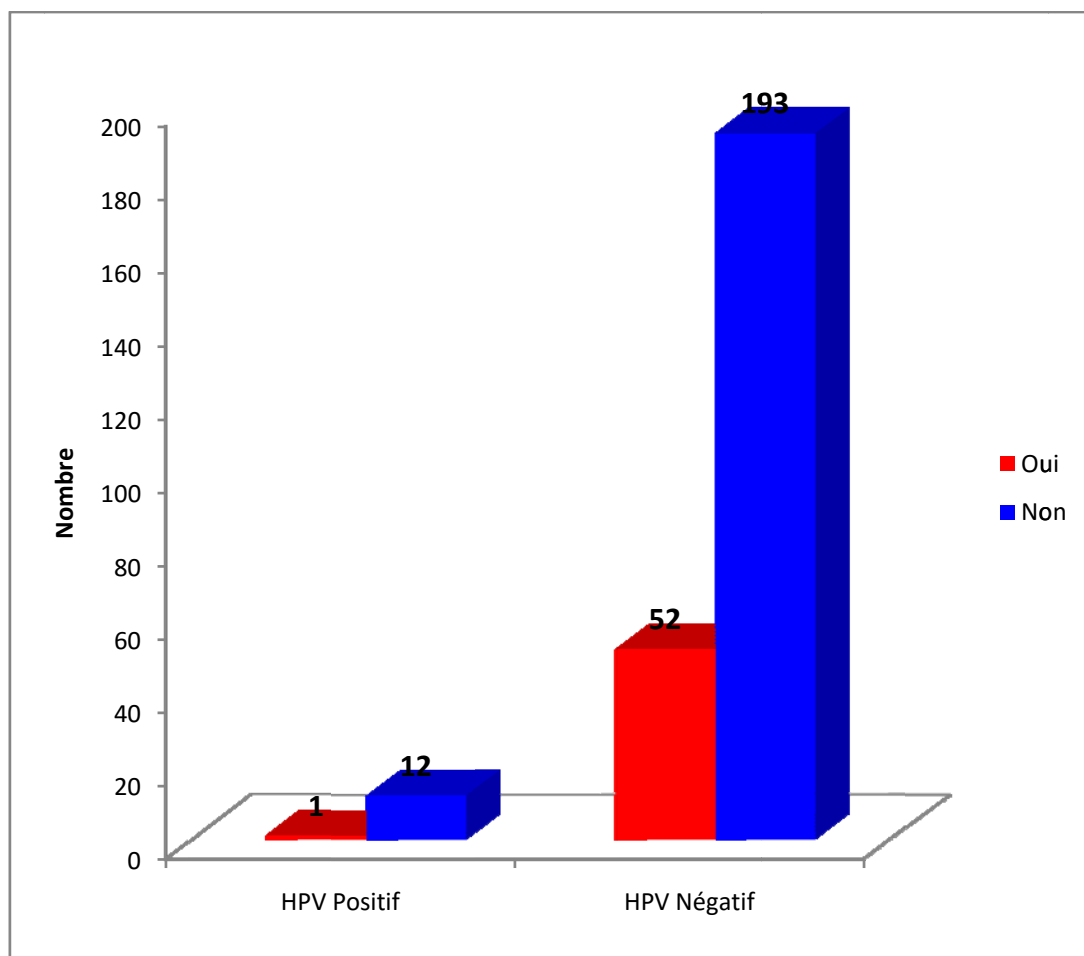


Figure 60. Distribution des HPV à haut risque selon la notion de pratique de Piscine, N=444

IV.5.9 Notion de l'utilisation du Bain ou Hammam

Dans la population de l'étude, la comparaison de l'utilisation du bain ou hammam entre les femmes HPV-HR positives et femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 36).

Tableau 36. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation du bain ou hammam

Hammam	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Non	10 (76.92%)	229 (53.13%)	0.158
Oui	03 (23.08%)	202 (46.87%)	0.158

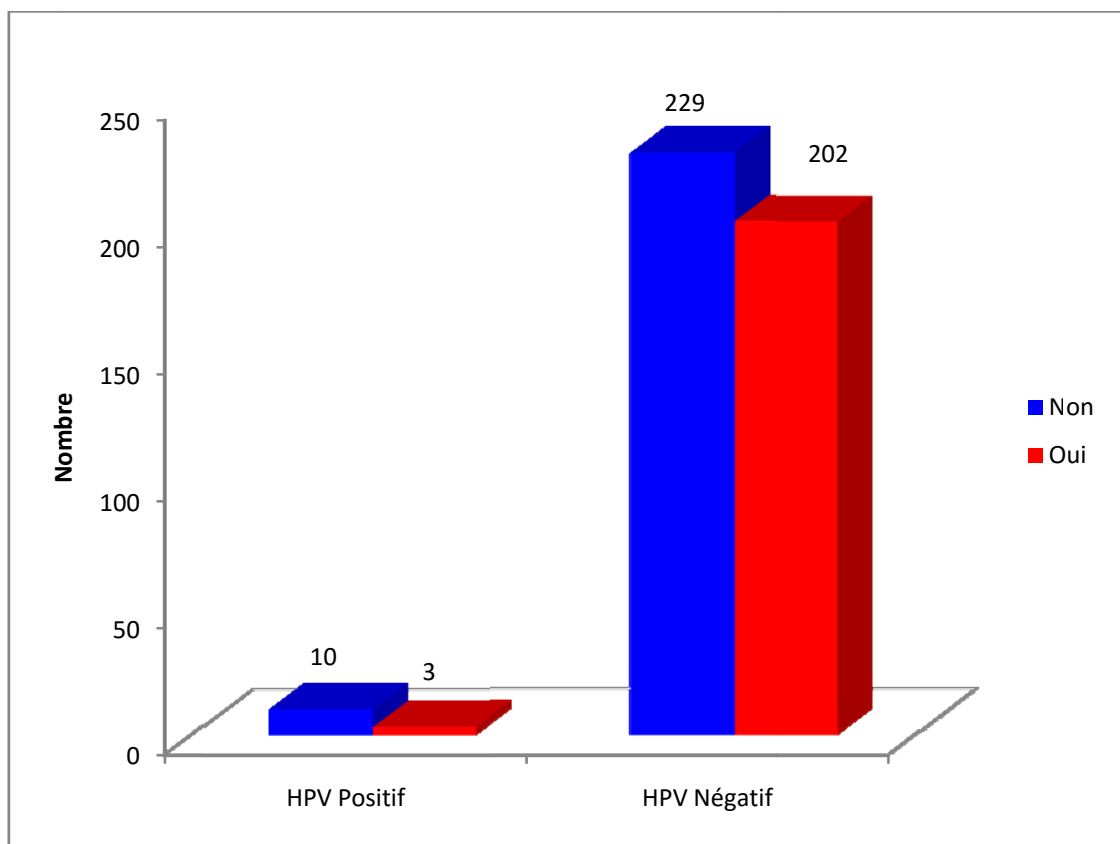


Figure 61. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation du bain ou hammam, N=444

IV.5.10 Tabagisme

Dans la population de l'étude, l'exposition au tabagisme des femmes HPV-HR positives et femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 37).

Tableau 37. Comparaison des patientes HPV positives et patientes HPV négatives selon l'exposition au tabagisme

Tabac	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Oui	4 (30.77%)	96 (22.27%)	0.700
Non	08 (61.54%)	335 (77.73%)	0.300

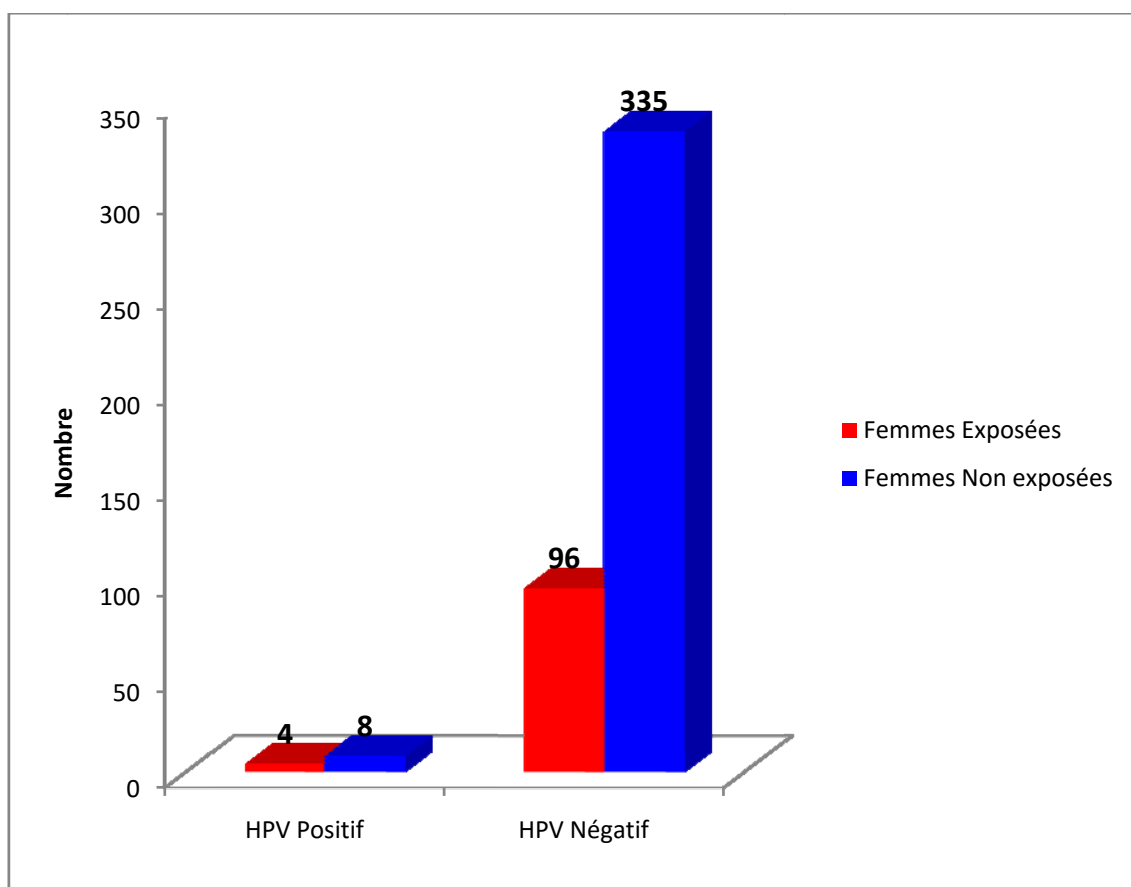


Figure 62. Distribution des HPV à haut risque selon l'exposition au tabagisme, N=444

IV.5.11 L'utilisation de l'échographie endovaginale

Dans la population de l'étude, l'utilisation de l'échographie endovaginale chez les femmes HPV-HR positives et femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 38).

Tableau 38. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon l'utilisation de l'échographie endovaginale

échographie endovaginale	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Oui	9 (69.23%)	200 (46.40%)	0.179
Non	4 (30.77%)	231 (53.60%)	0.179

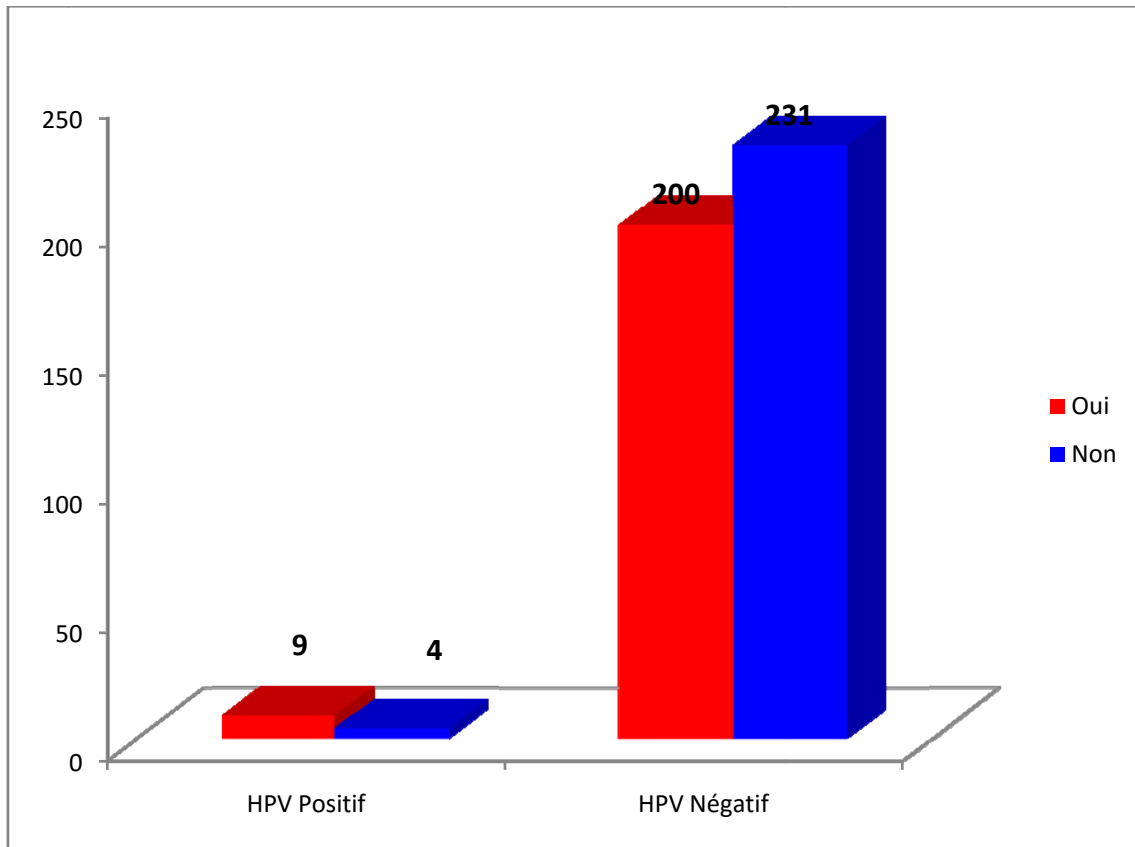


Figure 63. Distribution des HPV à haut risque selon l'utilisation de l'échographie endovaginale, N=444

IV.5.12 Antécédents familiaux de cancer du col

Dans la population de l'étude, la présence des antécédents familiaux de cancer du col chez les femmes HPV-HR positives et femmes HPV-HR négatives n'a pas montré de différence significative (Tableau 39).

Tableau 39. Comparaison des patientes HPV-HR positives et patientes HPV-HR négatives selon les antécédents familiaux de cancer du col

Antécédents familiaux de cancer du col	HPV Positif N = 13	HPV Négatif N = 431	P
Oui	01 (7.692%)	30 (6.961%)	1.000
Non	12 (92.31%)	401 (93.04%)	1.000

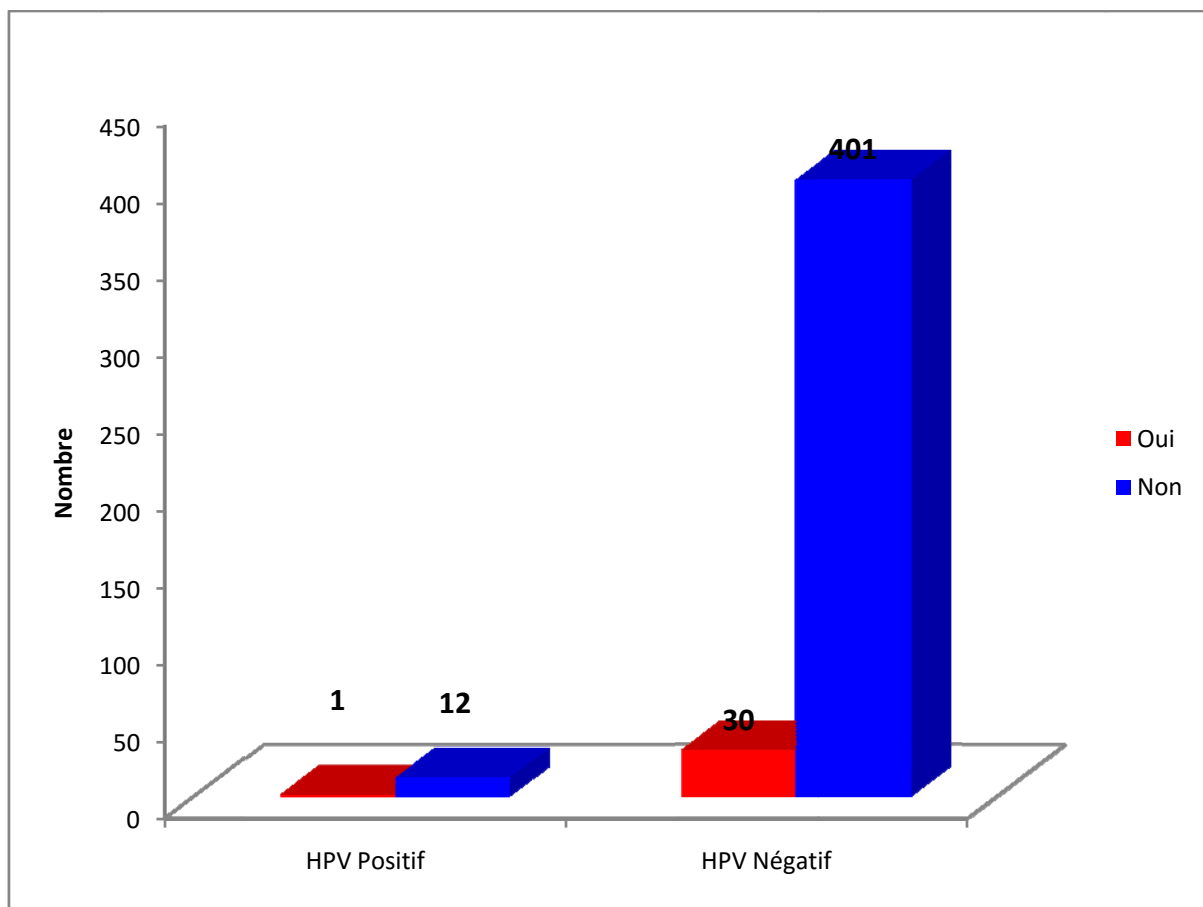


Figure 64. Distribution des HPV à haut risque selon les antécédents familiaux de cancer du col, N=444

Tableau 40. Récapulatif des facteurs de risque d'acquisition des HPV-HR chez les femmes dans la Wilaya de Blida

Facteurs de risque		Patientes HPV-HR positives	Patientes HPV-HR négatives	OR (Odd Ratio)	IC à 95% (Intervalle de confiance)	p
Age du premier rapport sexuel (an)		20,08±3,201	22,60±4,930	-	-	0,06
Durée de l'activité sexuelle (an)		22,62±12,45	21,15± 10,78	-	-	0,720
Nombre de partenaires sexuels	Partenaire unique	9 (69.23%)	402 (93.27%)	0.16	3.4 - 26.9%	6.5.10 ⁻³
	Partenaire multiple	4 (30.77%)	29 (6.729%)	6.16	5.7% - 11.0%	0.007
Nombre de gestations	0	2 (15.38%)	9 (2.088%)	8.53	7.9% - 17.6%	0.033
	1	0 (0%)	17 (3.944%)	-	-	0.509
	2	2 (15.38%)	40 (9.281%)	-	-	0.795
	≥3	9 (69.23%)	365 (84.69%)	-	-	0.263
Voie d'accouchement	Voie Basse	11 (100%)	400 (96.15%)			0.567
	Voie Haute	00 (0%)	16 (3.846%)			1.000
Utilisation de moyens de Contraception	Oui	08 (61.54%)	271 (62.88%)			1.000
	Non	05 (38.46%)	160 (37.12%)			1.000
Contraception orale	Oui	08 (61.54%)	250 (58.00%)			1.000
	Non	05 (38.46%)	181 (42.00%)			1.000
Utilisation du Dispositif intra-utérin	Oui	0	59 (89.40%)	0,00	0.000- 0.093	8.5.10 ⁻⁷
	Non	08 (100%)	07 (10.60%)	-	-	0.5333
Ménopause	Patientes ménopausées	04 (30.77%)	123 (30.22%)			1.000
	Patientes non ménopausées	09 (69.23%)	284 (69.77%)			0.977
La notion de pratique de Piscine	Oui	1 (7.692%)	52 (21.22%)	-	-	0.964
	Non	12 (92.31%)	193 (78.77%)	0.07	41.4 - 59.8	0.002
La notion de l'utilisation du Hammam	Oui	10 (76.92%)	229 (53.13%)			0.158
	Non	03 (23.08%)	202 (46.87%)			0.158
Tabagisme	Oui	4 (30.77%)	96 (22.27%)			0.700
	Non	08 (61.54%)	335 (77.73%)			0.300
L'utilisation de l'Echographie endovaginale	Oui	9 (69.23%)	200 (46.40%)			0.179
	Non	4 (30.77%)	231 (53.60%)			0.179
Antécédents familiaux de cancer du col	Oui	01 (7.692%)	30 (6.961%)			1.000
	Non	12 (92.31%)	401 (93.04%)			1.000

IV.6. Devenir des patientes après dépistage par le Test HPV

La prise en charge des patientes après dépistage par le test HPV est organisée avec un gynécologue en suivant les recommandations de l’OMS [191].

La prise en charge de nos patientes est illustrée sous forme d’algorithme (Figure 65).

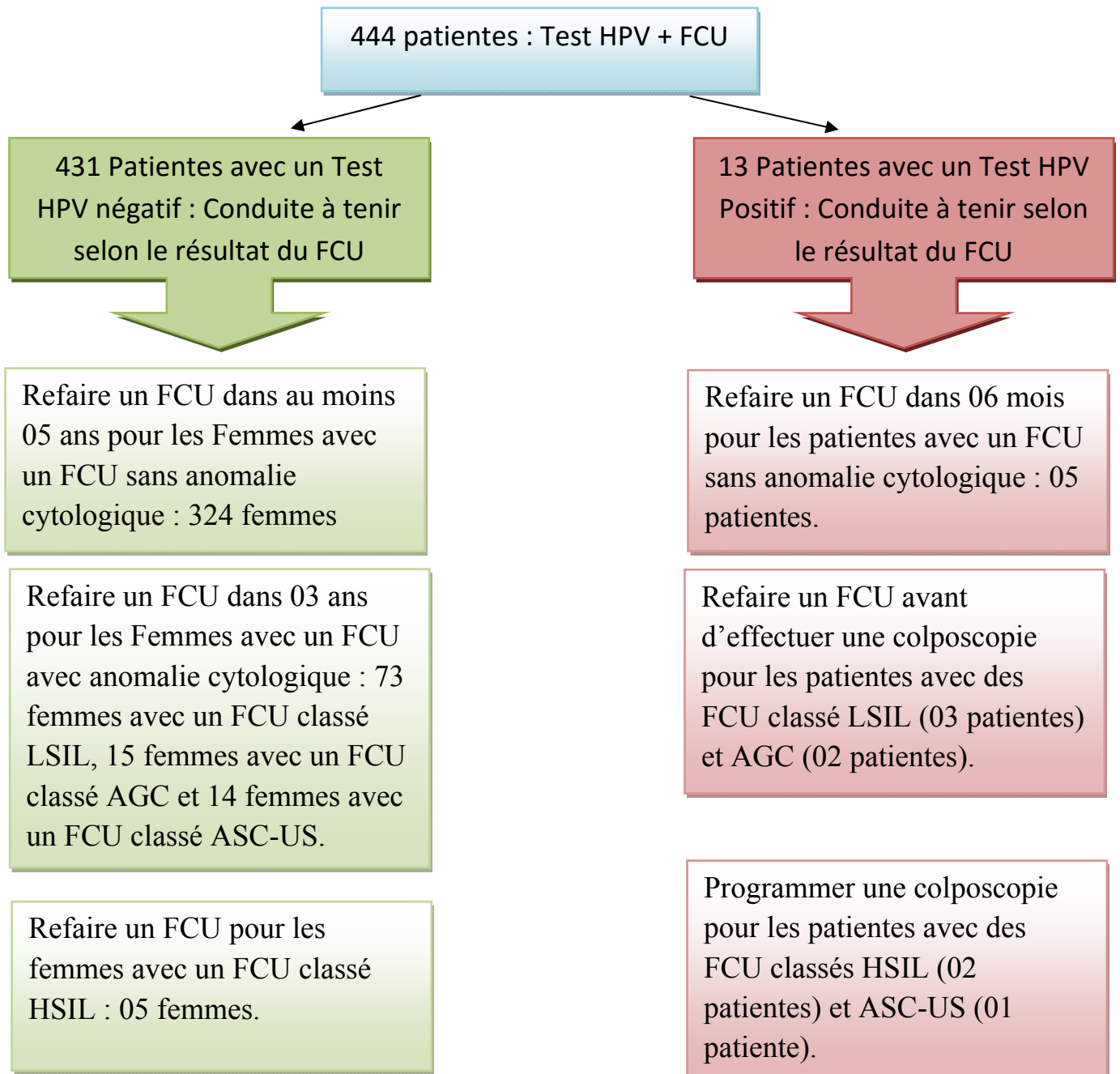


Figure 65. Algorithme du devenir des patientes de l’étude après dépistage par le Test HPV

V. DISCUSSION

V. DISCUSSION

Nous proposons une étude de prévalence des génotypes de HPV à haut risque de cancer du col de l'utérus chez la femme blidéenne en choisissant de faire un dépistage primaire par Test HPV et FCU. En effet, Le cancer du col se prête idéalement au dépistage. C'est un cancer fréquent. La possibilité du traitement des formes précoces et les lésions précancéreuses permet de faire la prévention secondaire. La cytologie est l'un des tests de dépistage simple et efficace mais avec une sensibilité limitée obligeant à des répétitions de prélèvements et surtout générant un taux non négligeable de faux négatifs. Effectivement, 2/3 des cancers sont observés chez des femmes n'ayant jamais eu de frottis (23,7%) ou avec un intervalle irrégulier toujours supérieur à 3 ans (43,1%), mais 27,3% des cancers sont observés chez des femmes ayant un frottis rendu normal depuis moins de 3 ans, et cette proportion approche 40% chez les femmes de moins de 45 ans [192]. Ceci n'a rien d'étonnant quand on se rappelle que les méta-analyses [193,194] font état d'une sensibilité du frottis cervico-utérin (FCU) de 57%. C'est pour ces raisons qu'il faut réfléchir à des méthodes de dépistage plus sensibles. Il est aujourd'hui unanimement reconnu que les papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR) représentent le seul facteur de risque indépendant de cancer du col et que, sans ce virus, il n'y a pas de développement de la maladie. C'est bien cette force d'association entre un agent viral et le cancer du col qui a ouvert la porte d'une part, à la notion de prophylaxie vaccinale et d'autre part, à l'intégration de la recherche des HPV-HR dans le dépistage des lésions précancéreuses. Les premières études comparant la sensibilité du test HPV à la cytologie pour le dépistage des lésions CIN2+ ont montré la supériorité écrasante du test viral : 96,1 % *versus* 53 % [195,196] avec 2 avantages supplémentaires : chiffres similaires dans toutes les études démontrant la reproductibilité des tests alors que les résultats sont très hétérogènes pour la cytologie, variant de 18,6 à 76,7 % [197] et la sensibilité indépendante de l'âge alors que pour la cytologie la sensibilité est moins bonne chez les femmes jeunes : 59,6 % *versus* 79,3 % au-delà de 50 ans [198]. Mais il existe un écueil majeur : c'est la spécificité très inférieure à celle de la cytologie : 90 % *versus* 96,3 %.

La sensibilité du test combiné « association du frottis et du test HPV » est quasi parfaite 100% pour Naucler [199] et le manque de spécificité du test HPV est amélioré grâce au triage cytologique qui semble faire l'unanimité. Cuzick [129] en 2003 est le premier à démontrer dans l'étude HART, que chez les femmes dépistées par le test HPV et le triage cytologique

donnaient les mêmes résultats que le recours immédiat à la colposcopie. C'est sur cette notion qu'il a bâti son arbre décisionnel (Figure 18).

L'infection à HPV est contractée dans l'immense majorité des cas par voie sexuelle. En effet, on considère que 70 à 80 % des femmes ont rencontré ou rencontreront un HPV au cours de leur vie sexuelle [200]. Cette infection très fréquente chez les jeunes femmes, reflet de leur activité sexuelle, est dans l'immense majorité des cas asymptomatique et transitoire, n'aboutissant à aucune maladie [201]. Autrement dit, le fait d'avoir un HPV au niveau des voies génitales ne devient « pathologique » qu'à distance des premiers rapports sexuels ; en pratique au-delà de 25 à 30 ans. La prévalence de l'HPV est de 40-70% dans les 3-4 années du début de l'activité sexuelle et diminue jusqu'à 7-10% après l'âge de 50 ans. Ce qui prouve l'aspect transitoire de l'infection à HPV et l'intérêt de cibler les infections HPV persistantes [202]. En effet, seules les infections persistantes, chroniques, pourront ouvrir la porte aux anomalies du cycle cellulaire et, au-delà, à la cancérisation éventuelle [203].

L'âge du début de l'activité sexuelle est différent selon les critères socioreligieux. En effet, dans notre société, l'âge du début de l'activité sexuelle est souvent corrélé à l'âge du mariage. L'office national des statistiques révèle que la moyenne d'âge du mariage de la femme algérienne est 29 ans. Ce qui justifie notre choix d'inclure les femmes ayant une activité sexuelle de plus de 5 ans dans notre échantillon au lieu de se baser sur le critère de l'âge entre 25 et 65 ans comme le recommandent le CNR de Papillomavirus et l'OMS, pour augmenter la chance d'avoir les HPV à haut risque persistants et éviter les HPV à haut risque en situation de portage transitoire.

Les prélèvements cervicaux sont effectués par un personnel médical (nous même, médecin généraliste, gynécologue) ou une sage femme. C'est un acte médical qui nécessite un personnel qualifié et un déplacement de la patiente. D'autres prélèvements plus faciles peuvent être utilisés pour le test HPV comme les urines et l'auto-prélèvement vaginal qui peuvent se faire par la patiente elle-même. Cela améliorerait l'accès au dépistage. Les kits de l'auto-prélèvement vaginal ne sont pas encore disponibles en Algérie. Nous rappelons que le HPV est un virus nu résistant en milieu extérieur, la transmission par objet souillé est donc possible. Il est donc impératif d'utiliser des speculums à usage unique ou des speculums stérilisés et hermétiquement emballés avant l'utilisation.

Le nombre de prélèvements cervicaux recrutés était 453 prélèvements, quatre ont été exclus avant l'analyse génomique car les candidates n'obéissaient pas à un critère d'inclusion « activité sexuelle plus de 5 ans ». Ainsi, un total de 449 prélèvements cervicaux a été analysé par PCR en temps réel avec le Cobas 4800 test. Chaque réaction nous permettait d'analyser 22 échantillons. Un total de 23 réactions a été réalisé. Nous avons été contraints de refaire deux réactions car certains résultats étaient invalides. La qualité de la détection et du génotypage de l'HPV est liée à celle du prélèvement, le prélèvement doit cibler la zone de jonction du col et doit ramener les cellules susceptibles de contenir l'ADN viral, cette étape est validée par le contrôle interne qui met en évidence l'ADN cellulaire de la Beta globine. La bonne conservation des réactifs aussi joue un rôle primordial essentiellement pour le contrôle positif qui risquerait de se décharger et contrôle négatif qui risquerait de se contaminer [204]. Dans notre étude, un seul prélèvement était invalide même après la deuxième réaction et donc a été exclu de l'étude.

Nous avons retenu 444 prélèvements cervicaux ayant les critères d'inclusion et validés par le Cobas 4800 test. Les 9 prélèvements exclus rappelons le : 5 patientes avaient une activité sexuelle de moins de 5 ans (Une patiente exclue après l'analyse génomique et vérification des critères d'inclusion), 3 patientes exclus après épuration statistique car elles ont été prélevées deux fois et un prélèvement invalide par le Cobas 4800 test après deux réactions.

Notre étude a ciblé les femmes habitant la Wilaya de Blida, un total de 444 femmes est inclus dans l'étude : 42% (187/444) des femmes dépistées étaient originaires de Blida centre, 21% (93/444) de Ouled Yaiche et 17.75% (79/444) de Beni Merad et 6.5% (29/444) de Bouarfa, et le reste des femmes étaient originaires des autres villes. Un taux 88% (391/444) des femmes dépistées étaient des non fonctionnaires. Le contact avec les candidates était facile. Ces dernières étaient enthousiastes à se faire dépister avec le Test HPV. Le consentement était quasi-immédiat.

L'étude épidémiologique menée par l'International Agency for Research on Cancer (IARC) sur plus de 1500 femmes issues de 11 pays montre que, tous âges confondus, la prévalence mondiale des infections génitales à HPV (tous types confondus) est de 10,5%. Cette étude fait également état d'une large variabilité de cette prévalence entre les pays étudiés allant de

1,4% en Espagne à 25,6% au Niger [205]. La prévalence, tous âges et tous types d'HPV confondus, est estimée à 25,6% en Afrique, à 8,7% en Asie, à 14,3% en Amérique du Sud et à 5,2% en Europe [205].

Dans notre étude, la prévalence des patientes HPV à haut risque (HPV-HR) positives est faible, elle est estimée à 3% (13 /444). La répartition des HPV-HR est comme suit : quatre (4) HPV 16, (1) HPV 18, HPV 31 (1), HPV 45 (3), HPV 52 (2), HPV 56 (1), HPV66 (2) et HPV 68 (1). La répartition des HPV à haut risque selon la commune de résidence montre une prédominance de patientes positives à Blida 7/13 suivi de Ouled Yaiche 3/13, Beni Merad 2/13 et Beni Tamou 1/13.

Nos résultats rejoignent ceux de Hammouda et al qui retrouvent une faible prévalence de 4% de HPV-HR chez les femmes à Zéralda en 2010 [206]. Nos résultats sont similaires à ceux retrouvés dans les études en Turquie [207], Tunisie [208] et Egypte [209] où les prévalences des HPV-HR sont de 3.5%, 6.6% et 6.5%, respectivement. Au Maroc [210], une étude retrouve une prévalence de 15%.

Nos résultats sont inférieurs comparés à ceux retrouvés en Europe, où les prévalences sont variables selon les pays : Slovénie (12.6%) [211], Roumanie (31%) [212], Macédonie (40.8%) [213], et Grèce (48.6%) [214].

En Asie, la prévalence des HPV-HR chez les femmes est plus élevée comparé à notre étude. En Chine, Feiyan Xiang et al ont réalisé une étude qui a intéressé 13 775 femmes sur une période de 2 ans, 13.96% des femmes étaient porteuses du HPV-HR [215]. En Corée, une cohorte de 18,170 de femmes retrouve une prévalence de HPV-HR égale à 12.48% [216].

Les prévalences du HPV-HR sont plus élevées en Amérique latines comparées à notre étude. Au Honduras, une étude retrouve 24.3% de femmes HPV-HR positives [217] et 23% au Paraguay [218]. En Australie, une étude de dépistage chez 2620 femmes retrouve une prévalence de HPV-HR de 26.5% [219].

Aux USA, entre 2013-2014, la prévalence du HPV-HR était de 51% [220], dans une autre étude, la prévalence chez les femmes d'origine latine au Texas était de 61%. Ces valeurs sont largement supérieures à nos résultats [221].

Les régions à forte prévalence sont celles où l'incidence du cancer du col utérin est le plus élevé, et les régions à prévalence plus faible avaient les plus faibles incidences [82]. Cependant, deux régions n'ont pas suivi ce schéma: Asie du Sud et Europe de l'Est. Les études de l'Asie du Sud, principalement de l'Inde, a présenté une incidence de cancer du col utérin relativement élevée (taux d'incidence normalisé selon l'âge, 25,0 nouveaux cas pour 100 000 femmes par an) [222] mais un taux faible de la prévalence de HPV, avec une prévalence globale ajustée de 7,1%. Contrairement, en Europe de l'Est, une prévalence élevée du HPV est estimée à 21,4% mais une incidence relativement faible (14,5 nouveaux cas pour 100 000 femmes par an [au-dessous de l'incidence mondiale de 15,2]) [222].

Tableau 41. Prévalence des HPV-HR et l'âge moyen des patientes dans la littérature et dans notre population d'étude

Pays	Taille de l'échantillon	Moyenne d'âge/an	Prevalence HPV-HR
Zéralda, 2011[206]	759	-	4%
Maroc, 2010[210]	938	42,5	15%
Tunisie 2016[208]	325	40.7	6.6%
Egypte , 2014[209]	443	39.3	6.5%
Turquie 2018[207]	1060992	-	3.5%
Grèce 2019[214]	144	-	48.6%
Roumanie 2019[212]	10553	45.67	31%
Slovenia 2010[211]	4431	-	12.9%
Macedonia 2018[213]	1895	40,8	40,58 %
Chine 2018 [215]	13 775	32.98	13.96%
Corée 2018[216]	18,170	41.40	12.48%
Paraguay, 2015[218]	181	30	23%
Texas, USA, 2014 [221]	808	36.5	64%
Australie, 2014 [219]	2620	32.6	26.5%
Notre etude	444	44,37	3%

Huit différents génotypes HPV-HR sont retrouvés dans notre étude (HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45, HPV 52, HPV 56, HPV66 et HPV 68) et deux patientes sur 13 avaient une infection avec plusieurs génotypes HPV-HR.

Selon la littérature, Environ 3,2% des femmes dépistées ont eu des infections avec plusieurs types de HPV, soit 20,0 % chez les femmes HPV positifs. D'autres analyses multivariées n'ont pas pu identifier les facteurs de risque liés à ces infections multiples [82].

Les génotypes prédominants dans notre étude sont HPV 16 (4/15) suivi de HPV 45 (3/15), (2/15) HPV 66 et (2/15) HPV52. Les quatre génotypes HPV-HR les plus courants dans le monde sont le HPV16 (3,2 %), le HPV18 (1,4 %), le HPV52 (0,9 %), le HPV31 (0,8 %) et le HPV58 (0,7 %) [82]. Comparé avec d'autres génotypes, le HPV31 est particulièrement fréquent en Europe (2,3 %) et le HPV52 est particulièrement fréquent en Amérique du Nord (2,1 %), l'Afrique (2,4 %) et l'Asie (0,7 %) après le HPV16 dans l'estimation globale. Le HPV45 est rare (0,5 %), habituellement classé après le reste des génotypes oncogènes [82].

Selon les études, la prévalence de l'infection à HPV diminuait avec l'âge, avec un pic de prévalence observée chez les femmes plus jeunes (25 ans). Chez les femmes d'âge moyen (35 à 50 ans), la prévalence du HPV variait d'une région géographique à l'autre: Afrique (20%), Asie / Australie (15%), Amérique du Sud (20%), Amérique du Nord (20%), Europe du Sud / Moyen-Orient (15%) et Europe du Nord (15%). Des tendances incohérentes de la prévalence du HPV ont été notées chez les femmes âgées, avec une baisse ou un plateau de la prévalence du HPV chez les personnes âgées dans la plupart des études, alors que d'autres ont montré une augmentation de la prévalence du HPV chez cette population là. Les variations mondiales de prévalence du HPV selon l'âge semblent refléter largement les différences de comportement sexuel entre les régions géographiques [91].

L'étude ARTISTIC de dépistage primaire combiné chez 24 510 femmes âgées entre 20-64 ans a démontré aussi que la prévalence de l'HPV diminue avec l'âge et cela quelque soit le grade du frottis : 33% entre 20-29 ans, 15% entre 30-39 ans, 9% entre 40-49 ans, 6% entre 50-69 ans [223].

Nos résultats sont différents. Dans notre étude, l'âge des femmes variait entre 24 et 85 ans. L'âge moyen était de $44,37 \pm 10,02$ [95% IC=43.43-45.30]. La différence de la moyenne d'âge entre les patientes HPV à haut risque positives et HPV à haut risque négatives n'est pas significative [Négatif vs positif : $44,32 \pm 10,02$ vs $45,31 \pm 10,41$, $p=0,636$]. Trente quatre pourcent des femmes prélevées sont âgées entre 40-49 ans. La répartition des patientes HPV positives selon l'âge montre un pic de prévalence des HPV à haut risque dans la tranche d'âge

[40-49 ans] avec un taux de 3.33% (5/150) pour 5 /13 cas HPV positifs suivi de la tranche d'âge [30-39 ans] avec un taux de 2.41% (3/124) pour 3/13, un taux de 1.9% (2/105) pour 2/13 dans la tranche [50-59 ans] ; 2/13 cas positifs dans la tranche d'âge >60 ans soit 3/30 femmes et 1/13 chez les femmes de moins de 30 ans soit 1/22 femmes. Hammouda et al retrouvent les mêmes résultats avec un pic de prévalence de 8.1% constaté chez les femmes âgées de 45 ans ou plus [203]. Pareil, en Egypte, le pic de prévalence de HPV-HR était (9,2%, 8/87) dans le groupe d'âge des 45 à 54 ans [209].

Dans une étude de dépistage à Marrakech chez les femmes âgées entre 25 et 65 ans avec un âge moyen de 42 ans [28]. Cinquante quatre pour cent des patientes HPV positif avaient moins de 37 ans. Dans l'étude Tunisienne de Ardhaoui et al, l'âge des femmes variait entre 18 et 65 ans. La fréquence de l'infection au HPV était plus élevée chez les femmes âgées de moins de 30 ans [208]. Ces comparaisons montrent que la répartition des HPV selon l'âge chez la femme algérienne semble différer de celle des femmes tunisiennes et marocaines.

En Turquie, la répartition des HPV selon l'âge dans une enquête de dépistage chez un échantillon de plus d'un million de femmes est de 4,3% (30 à 34 ans), 4,0% (35-39), 3,6% (40-44), 3,2% (45-59) et 2,8% (60-65), respectivement [207].

Dans l'étude de Nejo et al, l'âge des femmes variait entre 23 et 77 ans avec un âge moyen de $42,5 \pm 11,5$ ans. Le taux d'infection au HPV était plus élevé chez les femmes âgées de moins de 25 ans [224]. En Australie, la Prévalence de HPV selon est de 66.3% chez les femmes < 21 ans et de 15.3% chez les femmes > 40 ans [219]. Les mêmes résultats sont retrouvés dans d'autres études réalisées en France [225] et en Chine [215].

La distribution du HPV par âge se présente soit sous forme d'une courbe bimodale ou une courbe unimodale inclinée vers la gauche. Les raisons derrière ces 2 modèles différents sont encore controversées. La détection de l'infection à HPV chez les femmes commence toujours avec un pic juste après le début des relations sexuelles, après l'infection diminue progressivement pour atteindre à un plateau chez les femmes d'âge moyen. Dans certaines populations, un deuxième pic moins raide est observé chez les femmes âgées [82,91], et dans deux grands centres d'études américaines ce deuxième pic était même égal au premier pic [226, 227]. L'hypothèse de l'immunosénescence, changements dans le comportement sexuel au cours de l'âge moyen, ou un effet de cohorte peut jouer un rôle [228]. D'autres scientifiques ont suggéré que la périménopause peut être en cause des taux plus élevés de

persistance du HPV chez les personnes âgées plutôt qu'une nouvelle acquisition de HPV. Althoff et al [229] ont suggéré que ce deuxième pic peut être partiellement expliqué par des indicateurs de schémas hormonaux ménopausiques, tels que l'index de masse corporelle et appartenance ethnique. La cause pourrait être multifactorielle et résulter du comportement sexuel, caractéristiques virales telles que type HPV, susceptibilité de l'hôte [82].

Bien que les comparaisons soient difficiles en raison du faible nombre de femmes dépistées. D'après notre étude et celle de Hammouda et al [206], la courbe de prévalence du HPV selon l'âge en Algérie semble différer quelque peu de ceux de la littérature, avec une diminution observée chez les femmes de moins de 30 ans et une augmentation chez la femme de plus de 40 ans. La Corrélation entre la prévalence de l'infection à HPV-HR dans la population générale et le développement du cancer du col utérin a été démontrée, principalement chez les personnes âgées [227]. La survenue du cancer du col selon les génotypes HPV a été évalué dans une cohorte anglaise et l'une des conclusions de l'étude est que l'infection par un HPV à haut risque chez les femmes âgées de plus de 40 ans était associée à un risque environ 30 fois plus élevé de cancer invasif du col utérin par rapport aux femmes de moins de 40 ans selon le type de HPV retrouvé [230,231].

L'association de l'infection à HPV-HR avec des anomalies cytologiques est hautement significative. Effectivement, Notre étude a démontré que les patientes avec des lésions à haut grade HSIL ont 15 fois plus de risque d'avoir un HPV à haut risque [OR= 15.49, $p < 0.005$]. La distribution des HPV-HR selon l'aspect cytologique des FCU montre une prédominance des HPV-HR chez les femmes avec un FCU sans anomalie cytologique 38.43%, suivi de 23.08% LSIL, 2/7 HSIL, 2/17 des AGC et 1/15 ASC-US. Malgré la prédominance des HPV-HR dans les FCU sans anomalie, l'analyse statistique a démontré que les femmes avec un FCU sans anomalie ne présentent pas un risque d'acquisition de HPV-HR [OR= 0,16, $p < 0.008$]. Le lien entre la présence de lésions HSIL et HPV-HR est prouvé dans la littérature.

Dans l'étude marocaine de Souho et al, avec une cohorte de 633 femmes, la répartition des HPV-HR selon le profil cytologique était de 34,3%; 73,3%; 80,2% et 76,9% chez les

femmes avec cytologie normale, ASCUS, LSIL et HSIL, respectivement. Il a été constaté que les anomalies cytologiques sont aussi significativement liées à HPV positivité ($p < 0,05$) [232].

En Macédoine, La présence HPV était fortement associée aux anomalies cervicales. La prévalence de HPV-HR était plus élevée chez 79,1% des femmes avec des lésions HSIL et plus faible chez les femmes avec des FCU classé ASCUS 23,9% et avec les lésions LSIL 25,6% [213].

Une étude française sur 6539 frottis, montre la distribution des HPV à haut risque selon l'anomalie cytologique comme suit : Frottis normaux : 13,7%, ASC-US : 17,1%, LSIL: 24,1%, HSIL: 55,6% [233].

En Corée, Yung-Taek Ouh et al ont trouvé une prévalence globale des HPV HR était plus élevée dans les cytologies ASCUS / LSIL que dans la cytologie normale. La prévalence des HPV HR augmentait avec l'augmentation de la gravité de la cytologie cervicale ($p = 0,028$). Des HPV HR ont été détectés dans 2 012 (11,4%) des 17 717 cas de cytologie normale, 92 (40,4%) des 228 cas d'ASCUS, 113 (74,8%) des 151 cas de LSIL et 45 (90,0%) des 50 cas de HSIL / ASC-H [216].

Une étude réalisée sur les femmes américaines d'origine latine, a retrouvé une différence significative entre la présence de HPV-HR et les lésions HSIL ($P < 0,01$). Le taux de 55% HR-HPV chez les femmes avec des FCU sans anomalie cytologique et 92% HR-HPV était dans les lésions HSIL ont été constaté [221].

Dans notre étude, La distribution des génotypes HPV-HR selon l'anomalie cytologiques est la suivante : FCU sans anomalie (HPV 16 et HPV 66), LSIL (HPV45, HPV56, HPV52 et HPV68), HSIL (HPV16 et HPV45), AGC (HPV 18 et HPV 31) et ASC-US (HPV56).

Une étude anglaise, cas témoin, a évalué le risque de survenue du cancer du col selon les génotypes HPV-HR et a retrouvé que le risque de survenu de cancer invasif suivait cet ordre HPV16>HPV18>HPV45>HPV33. Le risque de survenue de cancer du col était nul pour ($OR=0$) pour HPV 51 et 68 [231]. Une étude cohorte coréenne du suivi de femme avec frottis

normaux pendant 16 ans avec un taux 13,3% HPV oncogène. Trente sept cancers sont survenus dont 25,5% causés par HPV16, 18% par HPV58 et 13,5% par HPV18, et 7 cancers survenus sans infections HPV à l'inclusion [234].

Combiner le test HPV au résultat cytologique des FCU nous a permis de trier les vraies patientes candidates à la colposcopie. Ainsi, la colposcopie a été évitée à 73 femmes avec des lésions LSIL, 14 femmes avec des FCU classés ASC-US et 15 femmes avec des FCU classés AGC. L'absence de l'HPV à haut risque dans les 5/7 cas des lésions HSIL encourage à éviter la colposcopie et insisterait plutôt à refaire un FCU. Nous rappelons que 5 femmes sans anomalie cytologique étaient HPV à haut risque positives, le dépistage primaire combiné nous a permis de cibler les vraies candidates au suivi avec des FCU chaque 6 mois/un an. De ce fait, dans notre étude, 5 femmes sans anomalie cytologique positives à HPV-HR bénéficieront d'un FCU dans 6 mois. Pour les femmes avec un résultat HPV-HR négatif un suivi avec un FCU est proposé dans 5 ans pour les femmes sans anomalie cytologique et dans 3 ans pour les femmes avec anomalie cytologique (Figure 18). L'utilisation du test HPV a ainsi permis d'espacer le suivi par FCU chez les patients sans risque.

La persistance et le type de HPV-HR sont des facteurs de risque nécessaires mais insuffisants pour le développement des lésions précancéreuses et cancéreuses du col. Afin d'évaluer les facteurs de risque d'acquisition de l'HPV, un questionnaire fut établi et proposé aux femmes incluses dans notre étude. Les facteurs de risque à évaluer sont : l'âge du premier rapport sexuel, le nombre de partenaire sexuel, le nombre de gestation, la parité, la voie d'accouchement, la ménopause, la contraception, le tabagisme, les antécédents familiaux de cancer du col. Le virus de HPV, rappelons-le, est un virus nu à capsidie icosaédrique de nature protéique. Cette propriété lui confère une résistance dans le milieu extérieur et donc le risque de transmission par les objets et les eaux souillées existent. C'est pourquoi, la notion de la pratique de la piscine, le bain, l'exposition à l'échographie endovaginale ont été intégrés dans le questionnaire.

Comme vu précédemment, dans notre étude, l'âge n'est pas un facteur de risque d'acquisition de l'HPV par contre la présence d'anomalie cytologique est un facteur de risque lié à HPV-HR en cas de lésions HSIL, mais les patientes avec FCU sans anomalie cytologique ne présentent pas de risque d'acquisition le HPV-HR.

Dans notre étude, deux facteurs de risque d'acquisition de l'HPV-HR ont été retrouvés avec des valeurs statistiquement significatives : Les partenaires sexuels multiples [OR= 6.16, $p < 0.007$, 95% IC=5.7% - 11.0%] et la femme nullipare [OR= 8.53, $p < 0.033$, 95% IC=7.9% - 17.6%]. L'analyse statistique multivariée a aussi retrouvé que les femmes avec un seul partenaire sexuel [OR= 0.16, $p < 6.5 \cdot 10^{-3}$, 95% IC=3.4 - 26.9%], qui utilisaient le DIU comme moyen de contraception [OR= 0,1, $p < 0.001$, 95% IC=12.5% - 19.2%] et qui se rendaient à la piscine [OR= 0.07, $p < 0.002$, 95% IC=41.4 to 59.8%] ne présentent pas de risque d'acquisition de HPV-HR.

La contraception orale, la multiparité, le tabagisme, le bain, l'échographie endovaginale et les antécédents familiaux de cancer du col ne sont pas considérés comme facteurs de risque dans notre étude car l'analyse statistique multivariée n'a pas montré des valeurs statistiquement significatives.

Les facteurs de risque d'acquisition de l'infection à HPV-HR sont variables selon les régions géographiques.

L'infection génitale à HPV est l'infection sexuellement transmissible la plus fréquente ce qui explique que la présence de partenaire multiple soit un facteur de risque retrouvé quasiment dans toutes les études. Cependant, certaines études [235,236] montrent que ni l'âge au premier rapport sexuel, ni le nombre de partenaires sexuels, n'étaient significativement associés à HPV infection. Ces résultats doivent être examinés à la lumière du caractère extrêmement sensible de cette question et la possibilité de réponse inexacte, ce qui entraîne un biais d'exposition erroné lors de la classification.

Comme dans notre étude, les partenaires multiples et la nulliparité sont retrouvés comme facteurs de risque significatifs dans les résultats de Hammouda et al. La nulliparité, qui est un facteur de protection contre la cancer du col, est à présent associée au HPV-HR d'après les enquêtes de surveillance de prévalence de HPV du centre international de recherche sur le cancer [237,238] mais cette association est susceptible d'être confondu par un comportement sexuel non mesuré. Niveau d'éducation et âge au premier rapport sexuel, ce qui ont été présentés comme des facteurs de risque de cancer du col en Algérie [238] et ailleurs, [236, 239,240].

Ardhaoui et al retrouvent les facteurs de risque d'infection par le HPV suivants : le tabagisme (OR: 2,8 [0,8–9,6]), le faible revenu (OR: 9,6 [1,4–63,4]), mauvais type de logement (OR: 2,5 [1-6,8]), partenaires sexuels multiples (OR: 4,5[0,9 à 22,9]) [208].

Souho et al de Fez, ont démontré que l'infection à HPV était significativement associée à l'âge, au nombre des partenaires sexuels et statut ménopausique ($p < 0,05$). Le niveau d'éducation, l'âge au début des rapports sexuels, l'utilisation de contraceptifs oraux, le tabagisme passif, des antécédents de fausse couche et l'utilisation de salles de bains publiques ne semblaient pas déterminants dans l'acquisition du HPV [232]. Par contre, Alhamany et al de Rabat, ont montré que l'utilisation de contraceptifs oraux est un facteur de risque significatif ($p = 0,0206$) [210].

Au Paraguay, Les femmes infectées par le HPV avaient des relations sexuelles plus jeunes (16 ans ou moins, $p = 0,018$) et un nombre plus élevé de partenaires sexuels ($p = 0,028$) [218].

Le tabagisme augmente le risque d'infection et de la persistance de HPV en fragilisant le système immunitaire [241]. Dans notre étude, l'association du tabagisme et l'HPV-HR n'est pas significative, probablement en raison de la taille limitée de l'échantillon. Dans la littérature, il a été démontré que le tabagisme était associé à une prévalence accrue de HPV [242].

La grossesse et la ménopause sont responsables de nombreux changements psychologiques, physiologiques et hormonaux pouvant affaiblir le système immunitaire [243,244]. L'immunité réduite permet non seulement l'infection par le HPV, mais constitue également un milieu favorable à la persistance du HPV et à l'apparence des lésions cellulaires. Les grossesses multiples et les accouchements par voie basse favorisent les lésions au niveau de la jonction du col et présentent ainsi un facteur de risque d'infection de HPV. Ni la multiparité, ni l'accouchement par voie basse ni la ménopause, n'étaient significatifs dans notre étude. Nejo et al et Kennedy et al et Traore et al ont constaté que le risque d'infection au HPV était environ deux fois plus élevé chez les femmes multipares [224, 241, 245].

Une étude australienne suggère que l'utilisation de contraceptifs hormonaux favorise la persistance des infections au HPV oncogènes pouvant conduire à une progression au cancer

du col utérin mais n'augmente pas le risque de nouvelles infections à HPV. Cette étude indique également que ces risques liés aux contraceptifs oraux sont généralement réversibles, avec un retour à des niveaux de risque similaires à ceux des femmes qui n'ont jamais pris de contraception orale [244]. Dans notre étude comme dans les études Arhdaoui et al [208] et Traore et al il n'y a pas d'association significative entre l'infection par le HPV et l'utilisation des contraceptifs oraux [245]. Par contre, nos résultats démontrent que les femmes qui utilisaient le DIU comme moyen de contraception ne sont pas à risque d'acquérir le HPV ($p < 0.005$).

Le risque de transmission des HPV par l'exposition à l'échographie endovaginale n'est pas significatif dans notre étude, même si 9/13 des femmes exposées à l'échographie endovaginale étaient HPV-HR positives.

Dans notre étude, la pratique de la piscine n'a pas un lien avec l'acquisition de HPV avec un OR= 0.07 et une différence statistiquement significative $p = 0.002$. La nature résistante de HPV dans le milieu extérieur incite au respect des règles strictes d'hygiène dans les collectivités (bains) et les loisirs aquatiques. Effectivement, ce virus peut persister sur les surfaces humides (sols, bords de la piscine...) ainsi que le linge mouillé. Il faut insister sur l'utilisation de matériel médical à usage unique et/ou stérile et la désinfection systématique des sondes endovaginales après l'utilisation. Notre étude rassure sur la qualité de la désinfection des sondes endovaginales ainsi que l'hygiène respectée dans les piscines de la Wilaya de Blida.

Les patientes sont convoquées pour la récupération des résultats et le suivi adéquat. Les femmes HPV-HR négatives sont triées selon le résultat de leur cytologie : 75% (324/444) femmes sans anomalie cytologique sont invitées à refaire un FCU dans au moins 5 ans, 22% (102/444) des femmes avec anomalie cytologique sont invitées à refaire le FCU dans 3 ans.

Les résultats de notre étude doivent être interprétés avec précaution vu la taille faible de notre échantillon, qui hélas était conditionné par la disponibilité des réactifs. Le point fort de notre étude est la détection des génotypes HPV à haut risque dans le laboratoire de référence de Papillomavirus de l'Institut Pasteur d'Algérie par des techniques moléculaires sensibles et reproductibles, le Test Cobas 4800 et Lineary array genotyping de Roche, qui permettent l'obtention de résultats rapides et fiables.

Le test HPV retrouve toute sa place dans le dépistage primaire du cancer du col de l'utérus en permettant de trier les patientes à risque, de justifier la colposcopie et d'espacer les FCU.

Des enquêtes élargies de prévalence de HPV-HR dans la population algérienne sont primordiales pour connaître les génotypes prédominants et établir une cartographie écologique de ce virus.

VI. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

VI. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

Le dépistage du cancer du col de l'utérus par le Test HPV est désormais recommandé par l'OMS pour toutes les femmes à partir de l'âge de 30 ans. Dans les lignes directrices de lutte contre cancer du col de l'utérus publiées en 2014 par l'OMS, il est conseillé d'utiliser une stratégie associant un dépistage par test HPV et un traitement plutôt que d'utiliser une stratégie associant un dépistage par cytologie suivie d'une colposcopie (avec ou sans biopsie) et un traitement.

Afin d'améliorer la stratégie du dépistage du cancer du col de l'utérus dans la Wilaya de Blida, il est primordial d'approvisionner le laboratoire de microbiologie du CHU de Blida de l'outil moléculaire nécessaire pour la recherche des HPV-HR et rendre ainsi le Test HPV accessible.

L'infection à HPV est une infection sexuellement transmissible (IST). De ce fait, il est recommandé d'éviter les facteurs de risque d'acquisition des IST comme les rapports sexuels non protégés et les partenaires sexuels multiples.

Le respect des règles d'hygiène dans le milieu hospitalier (Usage de spéculums stériles ou à usage unique, gants, désinfections des sondes endovaginales, matériel chirurgical stérile), dans les bains et les salles d'activités aquatiques est primordial pour éviter la transmission du Papillomavirus Humain qui rappelons le est un virus nu résistant dans le milieu extérieur.

Les prélèvements cervicaux de la population d'étude ainsi que les extraits d'ADN des HPV-HR retrouvées sont conservés à -20°C pour des études moléculaires ultérieures telles que le séquençage des souches HPV-HR et la recherche de HPV à bas risque.

VII. CONCLUSION

VII. CONCLUSION

Le papillomavirus Humain HPV est un virus à ADN particulier, par son tropisme cutanéomuqueux et son pouvoir oncogène qui sont liés aux génotypes. Effectivement, les HPV à tropisme génital sont classés selon leurs génotypes en HPV à bas risque oncogène et HPV à haut risque oncogène (HPV-HR). Les génotypes HPV à haut risque (16,18,26,31,33,35,39,45,51,52,53,56,58,59,66,67, 68,69,70,73,82,85) sont responsables de nombreuses anomalies vulvaires, vaginales, péniennes, de la voie bucco-pharyngée et des cancers de l'oropharynx en plus d'être responsables du cancer du col utérin. Les génotypes HPV-HR, HPV 16 et 18 sont responsables de plus de 70% de tous les cas du cancer du col dans le monde [3].

En Algérie, le cancer du col de l'utérus représente 10.6% des cancers chez la femme. Il est classé troisième après le cancer du sein et le cancer du colon selon les données statistiques du ministère de la santé 2016-2017 [246]. En 2015, les données Épidémiologiques du Réseau National des Registres du Cancer révèlent 1323 cas de cancer du col de l'utérus chez la femme algérienne et ce chiffre va augmenter pour atteindre 1360 cas en 2025 [247]. Cette maladie représente un énorme problème de santé publique dans le monde par son incidence et sa mortalité qui restent élevée [3] malgré la disponibilité de stratégie préventive efficace.

En effet, le cancer du col de l'utérus est un cancer évitable par deux stratégies préventives. La prévention primaire par la vaccination anti-HPV qui cible les génotypes à haut risque prédominants sous forme de vaccins bivalents (HPV 16, HPV18), quadrivalents (HPV16, HPV18, HPV6, HPV11) ou nonavalents (HPV6, HPV11, HPV16, HPV18, HPV31, HPV45, HPV52, HPV58). Et la prévention secondaire qui est basée sur la recherche des anomalies cytologiques par des FCU avec ou sans recherche de l'ADN viral par des Tests HPV.

Afin d'apporter des données sur la prévalence des HPV à haut risque et leur distribution selon l'âge et l'anomalie cytologique, nous avons réalisé une étude de cohorte prospective dans la Wilaya de Blida entre Janvier 2018 et Avril 2019 au niveau de l'EPSP Ouled Yaiche et le service de gynécologie-obstétrique de l'unité Hassiba Ben Bouali-CHU de Blida. Nos résultats ont montré une prévalence de 3% (13/444) de HPV à haut risque chez la femme blidéenne. Le pic de prévalence est observé chez les femmes âgées entre 40-49 ans. Huit différents génotypes HPV-HR sont retrouvés : HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45, HPV 52,

HPV 56, HPV66 et HPV 68. Les génotypes prédominants sont HPV 16 suivi de HPV 45, HPV 66 et HPV56. Deux patientes sur 13 avaient une infection avec plusieurs génotypes HPV-HR.

Le HPV-HR est retrouvé dans 38% des frottis sans anomalie, ce qui signale l'importance du dépistage combiné dans le tri des vraies patientes candidates au suivi gynécologique. Notre étude a démontré que les patientes avec des lésions à haut grade HSIL ont 15 fois plus de risque d'avoir un HPV à haut risque avec une différence statistiquement significative. Grâce au Test HPV, les colposcopies étaient orientées et efficaces pour les patientes ayant des FCU anormaux et un HPV à haut risque (3/13 LSIL, 2/13 AGC, 2/13 HSIL, 1/13 ASC-US), donc des colposcopies inutiles ont été évitées pour les autres patientes ayant des FCU anormaux avec absence HPV-HR. Les femmes avec un résultat HPV négatif seront invitées à refaire le frottis après au moins 5 ans si le FCU est normal ou après 3 ans si le FCU est anormal. Le test HPV permet ainsi d'espacer les FCU.

Plusieurs facteurs de risque sont impliqués dans la carcinogenèse de HPV à haut risque. Dans notre étude la présence de plusieurs partenaires sexuels et la femme nullipare présentent un facteur de risque d'acquisition de HPV-HR avec une différence statistiquement significative. Ainsi la présence de plusieurs partenaires sexuels augmenterait le risque d'acquisition de HPV à haut risque de 6 fois, et la femme nullipare à 8 fois plus de risque d'acquérir HPV à haut risque.

Notre étude a aussi démontré que l'utilisation du DIU comme moyen de contraception, la notion de la pratique de la piscine et la présence d'un seul partenaire sexuel n'avaient pas un lien avec l'acquisition de HPV-HR avec une différence statistiquement significative.

La prévalence relativement faible du HPV à haut risque à Blida est cohérente avec l'incidence du cancer du col de l'utérus en Algérie qui est estimée à 10,2 cas pour 100 000 femmes par an en 2015 [247]. Les femmes les plus touchées sont les femmes âgées de plus de 40 ans.

Ces données bien qu'insuffisantes vu la taille faible de notre échantillon nous pousse à réfléchir à améliorer la stratégie du dépistage du cancer du col de l'utérus à Blida en recherchant le HPV-HR afin de connaître l'écologie virologique dans la population pour une meilleure prise en charge des patientes.

Il est bien clair que le laboratoire de virologie joue un rôle principal dans la démarche de la prévention et la prise en charge du cancer du col de l'utérus. En effet, la disponibilité d'outils moléculaires sensibles et rapides permet la détermination des génotypes des HPV-HR grâce aux Tests HPV.

Le test HPV retrouve toute sa place dans la stratégie de lutte contre du cancer du col de l'utérus.

Des enquêtes élargies de prévalence de HPV-HR dans la population sont primordiales pour connaître la distribution des génotypes prédominants afin d'établir une cartographie écologique de ce virus en Algérie.

VIII. BIBLIOGRAPHIE

VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. Akram Husain R.S, Ramakrishnan V. Global Variation of Human Papillomavirus Genotypes and Selected Genes Involved in Cervical Malignancies, *Annals of Global Health*. 2015; 81(5): 2214-9996.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre MA, Jemal A. Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Cancer J Clin*. 2018;68:394-424.
3. La lutte contre le cancer du col de l'utérus : Guide des pratiques essentielles. OMS Deuxième édition 2017.
4. IARC Handbooks on the Cancer Prevention: Cervix Cancer Screening. Lyon, France: IARC Press; 2005.
5. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 64: Human Papillomaviruses. Lyon, France: IARC press; 1995.
6. Kops NL, Bessel M, Horvath JDC, Domingues C, De Souza FMA, Benzaken AS, Mendes Pereira GF, Maranhão AGK, Villa LL, Mello B, Wendland EM. Factors associated with HPV and other self-reported STI coinfections among sexually active Brazilian young adults: cross-sectional nationwide study. *BMJ Open*. 2019;9(6):e027438.
7. Chan PK, Zhang C, Park JS, Smith-McCune KK, Palefsky JM et al. Geographical distribution and oncogenic risk association of human papillomavirus type 58 E6 and E7 sequence variations. *Int J Cancer*. 2013 ; 132: 2528-2536.
8. Zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers — a brief historical account. *Virology*. 2009; 384:260–265
9. Bosch FX, Rohan T, Schneider A, Frazer I, Pfister H, Castellsague X. Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV. *J Clin Pathol*. 2001; 54(3):163–75.
10. Beby-Defaux A, Agius G. Papillomaviridae. In : Huraux JM. *Traité de virologie médicale*. SFM ; 2003. p.267-273.
11. Gorin SNS, Glenn BA, Perkins RB. The human papillomavirus (HPV) vaccine and cervical cancer: uptake and next steps. *Adv Ther*. 2011;28(8):615–39.
12. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: the burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006;24(suppl 3):S3/11-S3/25.
13. Lacey CJ, Lowndes CM, Shah KV. Chapter 4: burden and management of non-cancerous HPV-related conditions: HPV-6/11 disease. *Vaccine*. 2006; 24(suppl3):S3/35-S3/41.

14. Pomfret TC, Gagnon JM Jr, Gilchrist AT. Quadrivalent human papillomavirus (HPV) vaccine: a review of safety, efficacy, and pharmacoeconomics. *J Clin Pharm Ther.* 2011;36:1-9.
15. WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer. HPV and cervical cancer in the 2007 report. *Vaccine.* 2007;25(suppl 3):C1-230.
16. Chan PK, Ho WC, Yu MY. Distribution of human papillomavirus types in cervical cancers in Hong Kong: current situation and changes over the last decades. *Int J Cancer.* 2009;125:1671-1677.
17. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health and Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *J Infect Dis.* 2011; 204:566-573.
18. Woodman CB, Collins S, Winter H, et al. Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet.* 2001;357:1831-1836.
19. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287: 2114-9.
20. Douvier S. The long-term follow-up of women with a normal smear and positive HPV typing. 2nd European Congress of Colposcopy and cervical Pathology. 2001. Rhodos.
21. Sherman ME, Solomon D, Schiffman M. Qualification of ASCUS. A comparison of equivocal LSIL and equivocal HSIL cervical cytology in the ASCUS-LSIL Triage Study. *Am J Clin Pathol.* 2001;116:386-94.
22. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomised trial. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93:293-990.
23. Zur Hausen H. Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122:3-13.
24. S. Douvier and al, Infections à papillomavirus. EMC-Maladies Infectieuses 1. 2004 ; 235-261.
25. Katie Valentino, Cathlin B, Poronsky. Human Papillomavirus Infection and Vaccination. *Journal of Pediatric Nursing.* 2016;31:155-166.
26. Beaudin S, Naspetti M, Montixi C. Les papillomavirus humains : actualisation des connaissances, Dossier scientifique à destination des enseignants, 2014-2015.

27. Alain S, Hantz S, Denis F. Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *mt pédiatrie*. 2010 ;13(1) :5-19.
28. Ait El Hadj F. Dépistage du Papillomavirus Humain dans la région de Marrakech. Thèse pour l'obtention de doctorat en médecine. Marrakech, janvier 2019.
29. Tommasino M. The Human Papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2014;26:13-21.
30. Schlegel R. Papillomaviruses and human cancer. *Semin Virol*.1990;1:297-306.
31. Chena Z, Schiffman M, Herrero R, DeSalle R, Anastosf K, Segondy M, Sahasrabudhei V, Gravitt PE, Hsingk AE, Chana PKS, Burk RD. Classification and evolution of human papillomavirus genome variants: Alpha-5 (HPV26, 51, 69, 82), Alpha-6 (HPV30, 53, 56, 66), Alpha-11 (HPV34, 73), Alpha-13 (HPV54) and Alpha-3 (HPV61). *Virology* 516. 2018:86-101.
32. de Villiers E, Fauquet C, Broker T, Bernard H, Zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*.2004;324:17-27.
33. Doorslaer KV. Papillomaviruses: Evolution, Linnaean Taxonomy and Current, Nomenclature. *Trends Microbiol*. 2011 February ; 19(2): 49-51.
34. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Biological agents. volume 100 B. A review of human carcinogens. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans / World Health Organization. Int. Agency Res. Cancer. 2012;100 1-441.
35. Schiffman M, Doorbar J, Wentzensen N, de Sanjose S, Fakhry C, Monk BJ, Stanley MA, Franceschi S. Carcinogenic human papillomavirus infection. *Nat. Rev. Dis. Prim*. 2016; 2, 16086.
36. Segondy M. Classification des papillomavirus (HPV). *La Revue Francophone des Laboratoires*.2008;405:23-5.
37. Bosch F, Manos M, Munoz N, Sherman M, Jansen A, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst*. 1995; 87: 796-802.
38. Dunne E, Unger E, Sternberg M, Mcquilan G, Swan D, Patel S, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA*. 2007;297(8):813-19.
39. Robert F. Détection des HPV à haut risque comme alternative pour les femmes non adhérentes au dépistage cytologique du cancer du col utérin : Etude pilote sur

- l'acceptabilité et la faisabilité de l'auto-prélèvement vaginal et du prélèvement urinaire. These phar. Université de Poitiers Faculté de Médecine et de Pharmacie, 2016.
40. Jolly S, Pinon P, Ottmann M. La famille des Papillomaviridae : tropisme cellulaire et cycle de réplication. univ-lorraine, 2010.
 41. Mighty KK, Laimins LA. The role of human papillomaviruses in oncogenesis. *Recent Results Cancer Res.* 2014;193:135-48.
 42. Shah KV, Howley PM. Papillomaviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors, *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 2077-109.
 43. Murall CL, Rahmoun M, Selinger C, Baldellou M, Bernat C, Bonneau M, Boué V, Buisson M, Christophe G, D'Auria G, Taroni F, Foulongne V, Froissart R, Graf C, Grasset S, Groc S, Hirtz C, Jaussent A, Lajoie J, Lorcy F, Picot E, Picot MC, Ravel J, Reynes J, Rousset T, Seddiki A, Teirlinck M, Tribout V, Tuaillon É, Waterboer T, Jacobs N, Bravo IG, Segondy M, Boulle N, Alizon S, Natural history, dynamics, and ecology of human papillomaviruses in genital infections of young women: protocol of the PAPCLEAR cohort study. *BMJ Open.* 2019; 9(6):e025129.
 44. Burchell AN, Winer RL, de Sanjosé S, Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine.* 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/52-61.
 45. Dunne EF, Nielson CM, Stone KM, Markowitz LE, Giuliano AR. Prevalence of HPV infection among men: A systematic review of the literature. *J Infect Dis.* 2006 ; 194 : 1044-57.
 46. Sonnex C, Strauss S, Gray JJ. Detection of human papillomavirus DNA on the fingers of patients with genital warts. *Sex Transm Infect.* 1999;75:317-9.
 47. Winer R, Hughes J, Feng Q, O'Reilly S, Kiviat N, Holmes K, et al. Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med.* 2006;354:2645-54
 48. Reich O. is early first intercourse a risk for cervical cancer? *gynacol geburtshilfliche rundsh.* 2005 ; 45(4) : 251-256.
 49. Riethmuller D, Mougin C. Transmission maternofoetale des human Papillomavirus. Paris: Vigot; 2008.
 50. Syrjanen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol.* 2005; 32 (Suppl 1) : S59-66.

51. Tseng CJ, Lin CY, Wang RL, Chen LJ, Chang YL, Hsieh TT, et al. Possible transplacental transmission of human papillomaviruses. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 166:35-40.
52. Worda C, Huber A, Hudelist G, Schatten C, Leipold H, Czerwenka K, et al. Prevalence of cervical and intrauterine human Papillomavirus infection in the third trimester in asymptomatic women. *J Soc Gynecol Investig.* 2005;12:440-4.
53. Mûnger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, Grace M, Huh K. mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *j. virol.* 2004 ; 78 (21) : 11451-11460.
54. 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.
55. Rappillard A. Les papillomavirus et le cancer du col de l'utérus, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Lyon, 2010
56. Doorbar J, Ely S, Sterling J, Mclean C, Crawford L. Specific interaction between HVP16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature.* 1991 ; 352 (6338) : 824-827.
57. Smith ML, Chen IT, Zhan Q, Bae I, Chen CY, Gilmer TM et al. Interaction of the p53-regulated protein gadd45 with proliferating cell nuclear antigen. *Science.* 1994 ; 266 : 1376-80.
58. Webster K, Parish J, Pandya M, Stern PL, Clarke AR, Gaston K. The human papillomavirus (HPV) 16 E2 protein induces apoptosis in the absence of other HPV proteins and via a p53-dependent pathway. *J Biol chem.* 2000 ; 275 : 87-94.
59. Monsonego J. *Traité des infections et pathologies génitales à papillomavirus.* Paris; Springer. 2007.
60. Tawil S. Les freins à la vaccination contre les papillomavirus : enquête chez les parents de jeunes filles de 11 à 19 ans, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine, Paris, 2015
61. Laurent R, Meynadier J, Souteyrand P, Roujeau J, Bedane C. Tumeurs cutanées épithéliales et mélaniques. Tumeurs à papillomavirus humains. *Ann Dermatol Venereol.* 2002;129(2):S137-42.
62. Quéreux C, Bory JP, Graesslin O. Condylomes acuminés. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français; 2007.

63. Riethmuller D, Guerrini J, Aubin F. Lésions préneoplasiques et néoplasiques associées à l'infection par papillomavirus humains. *Bull Acad Natle Méd.* 2007;191(3):601-10.
64. Euvrard S, Chardonnet Y, Faure M. Les lésions cutanéomuqueuses non génitales liées aux papillomavirus humains. In: Blanc B. Les infections génitales à papillomavirus (H.P.V). Paris; Arnette: 1990.
65. Castellsague X, de Seanjose S, Anguado T, Bruni L, Muniz J, Bosch F and al. HPV and cervical cancer in the world 2007 report. *Vaccine.* 2007;25(suppl3):C1-88.
66. Nahet A, Boublenza L, Hassaine H, Masdoua N, Prétet J L, Belglaiiaa E, Mougin C. Le génotypage d'ADN d'HPV : une étude de cancers ano-génitaux, de cancers des VADS et de cancers cutanés dans la population de l'ouest algérien. Détection d'HPV dans différents cancers dans la population de l'ouest algérien. *Bull Cancer.* 2016 ; 103(5), 455-460.
67. Monsonego J. Infection à papillomavirus : infections génitales. Base fondamentales. Paris; Springer. 2006. p 30-34
68. Frazer I. Correlating immunity with protection for HPV infection. *Int J Infect Dis.* 2007 ; 11 (Suppl 2) : S10-6.
69. Frazer IH. Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: a well evolved relationship. *Virology.* 2009 ; 384 : 410-4.
70. Stern PL. Immune control of human papillomavirus (HPV) associated anogenital disease and potential for vaccination. *J Clin Virol.* 2005 ; 32 (Suppl 1) : S72-81.
71. 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.
72. 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.
73. Kuijken I, Bouwes Bavinck JN. Skin cancer risk associated with immunosuppressive therapy in organ transplant recipients: epidemiology and proposed mechanisms. *BioDrugs* .2000 ; 14 : 319-29.
74. Kanodia S, Fahey L, Kast W. Mechanisms used by papillomavirus to escape the host immune response. *Curr Cancer Drug Targets.* 2007;7:79-89.
75. OMS. Chapitre 2 : Anatomie du pelvis féminin et histoire naturelle du cancer du col de l'utérus. In: La lutte contre le cancer du col de l'utérus. Guide des pratiques essentielles. Genève; OMS:2007.p27-44.

76. Mougin C, Dalstein V. Epidémiologie, histoire naturelle et détection des infections à HPV. *Biotribune*.2004;9:16-8.
77. Isautier S. Place de la vaccination anti-Papillomavirus Humains dans la prévention du cancer du col de l'utérus, situation à l'Ile de la Réunion, Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie, Lorraine, 2012
78. Gompel C. Chapitre 5: Evolution des idées concernant la classification des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin. In : Gompel, C. Dépistage du cancer du col utérin. Paris; Maloine : 2005.p27-35.
79. Boulanger J, Fauvet R, Urrutiaguer S, Drean Y, Sevestre H, Ganry O, et al. Histoire cytologique des cancers du col utérin diagnostiqués en France en 2006. *Gynecol Obstet Fertil*. 2007;35:764-71.
80. Nayar R, Wilbur DC. The Bethesda System for reporting cervical cytology: A historical perspective. *Acta Cytol*. 2017; 61(4-5):359-372
81. Parkin DM. The global burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int j Cancer*. 2006 ; 118 : 3030-44.
82. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010 ; 202 : 1789-99.
83. Mboumba Bouassa R.S et al, Cancer du col de l'utérus en Afrique subsaharienne : une maladie associée aux papillomavirus humains oncogènes, émergente et évitable, *Médecine et Sante Tropicales*. 2017 ; 27 :16-22.
84. Zur Hausen H. Papillomavirus infections-a major cause of human cancers. *Biochim Biophys Acta*. 1996;1288(2):55-78.
85. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, Van Doorslaer K, Zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*. 2010;401(1):70-9.
86. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Engl J Med*. 2003;348(6):518-27.
87. Smith JS, Lindsay L, Hoots B, Keys J, Franceschi S, Winer R, et al. Human Papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer*. 2007;121(3):621-32.

88. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010;11(11): 1048-56.
89. Frega A, Stentella P, de Ioris A, Piazze JJ, Fambrini M, Marchionni M, Cosmi EV. Young women, cervical intraepithelial neoplasia and Human Papillomavirus: risk factors for persistence and recurrence. *Cancer Lett.* 2003; 196(2) : 127-134.
90. Bosch FX, Lorincz A, Munoz N. The causal relation between Human Papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:544-65.
91. Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-Specific Prevalence of Infection with Human Papillomavirus in Females: A Global Review. *Journal of Adolescent Health.* 2008 ;43:S5-S25
92. Deacon J, Peto J, Yule R. Sexual behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and CIN3 among those infected: a case-control study nested within the Manchester cohort. *Br. J. Cancer.* 2000; 83(11): 1565-1572.
93. Groupe de l'Institut National du Cancer. La situation du cancer en France en 2009.
94. Smith JS, Green J, Berrington de Gonzalez A, Appleby P, Plummer M et al. Cervical cancer and use of hormonal contraception : a systematic review. *Lancet.* 2003; 361 (9364): 1159-1167.
95. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. Role of parity and Human Papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet.* 2002;359(9312):1093-101.
96. International Collaboration of Epidemiological studies of Cervical Cancer. Carcinoma of the cervix and reproductive factors: Collaborative reanalysis of individual data on 16,543 women with cervical cancer and 33,542 women without cervical cancer from 25 epidemiological studies. *Int J Cancer.* 2006; 119: 1108-24.
97. Monsonego J. Rôle des cofacteurs dans la carcinogénèse viro-induite des épithéliums malpighiens des voies génitales basses. *Gynécologie.* 1988;39:435-44.
98. Dal Maso L, Serraino D, Franceschi S. Epidemiology of HIV-associated malignancies in developed and developing countries. *Eur J Cancer.* 2001;37:1188-201.
99. Bonnet F, Morlat P. Cancers et infections par le VIH : quelles associations? *La revue de médecine interne.* 2006;27:227-35.
100. Masdoua N, Boublenza L , Hassaine H, Ngou J, Nahet A, Segondy M, Razik F, Regagba D, Sadouki N, Mouhammedi D. Characteristics of HPV infection in women at risk in Western Algeria. *Med Mal Infect.* 2016;47 (1) :38-41

101. Smith J, Munoz N. Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis.* 2002; 185: 324-31.
102. Anttila T, Saikku P, Koskela P. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA.* 2001; 285 (1): 47-51.
103. Smith J, Herrero R. Herpes simplex virus-2 as a Human Papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 1604-13.
104. Perez LO, Barbisan G, Abba MC, Laguens RM. Herpes simplex virus and Human Papillomavirus infection in cervical disease in Argentine women. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2006; 25 (1): 42-47.
105. Wilson J, Jungner G. The principles and practice of screening for disease. Geneva; World Health Organisation. 1968.
106. Peto J, Gilham C, Deacon J, Taylor C, Evans C, Binns W, Haywood M, Elanko N, Coleman D, Yule R, Desai M. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study : the Manchester cohort. *Br J Cancer.* 2004 ; 91(5) : 942-53.
107. Gompel C. Chapitre 7: Recommandations pour une pratique clinique appropriée concernant le frottis du col de l'utérus. In : Gompel, C. Dépistage du cancer du col utérin. Paris; Maloine: 2005.
108. Broadstock M. Liquid-based cytology- An alternative international view. *Cytopathology.* 2001;12:141-3.
109. Spinillo A, Gardella B, Chiesa A, Cesari S, Alberizzi P, Silini EM. Diagnostic accuracy of colposcopy in relation to human papillomavirus genotypes and multiple infection, *Gynecologic Oncology.* 2014 (134);527-533.
110. Ollier L, Giordanengo V. Méthodes de détection et d'identification des HPV. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2008 ;405:50-51.
111. Halfon P, Camus C. L'auto-prélèvement a-t-il de l'avenir dans le dépistage du cancer du col en France. *Société colposcopie.* 2016.
112. Bertucci M, Dambroise C, Satger L, Boull N. Auto-prélèvement avec test HPV: une nouvelle alternative pour améliorer l'adhésion au dépistage du cancer du col de l'utérus. *Revue francophone des laboratoires.* 2018;503:50-57.
113. Maged AM, Saad H, Salah E, Meshaal H, AbdElbar M, Omran E, Eldaly A. Urine test for HPV genotypes as a predictor of precancerous cervical lesions and for cervical cancer screening. *Int J Gynecol Obstet.* 2018; 141(3):332-336.

- 114.** Martinelli M, Sechi I, Montanini B, Musumeci R, Sina FS, Crotti C, Piana A, Landoni F, Cocuzza C. Evaluation of high-risk Human Papillomavirus (hrHPV) test accuracy on vaginal and urine self-samples in ascreening and test-of-cure setting. 29th ECCMID, Avril 2019, Amsterdam, Netherlands.
- 115.** Dalstein V, Briolat J, Birembaut P, Clavel C. Méthodes de PCR. Apport de l' Amplicor et du génotypage. *Traité Des Infections et Pathologies Génitales à Papillomavirus*. 2007, p47-53.
- 116.** Hantz S, Caly H, Decroisette E, Dutrop A, Bakeland D, Pascal B et al. Évaluation des performances de trois techniques de détection et de typage des Papillomavirus humains : Hybrid Capture® 2, HPV Consensus kit® et Amplicor HPV®. *Pathologie Biologie*. 2008; 56:29-35.
- 117.** Clavel C, Rihet S, Masure M, Chypre C, Boulanger JC, Quereux C, Birembaut P. DNA-EIA to detect high and low risk HPV genotypes in cervical lesions with E6/E7 primer mediated multiplex PCR. *J. Clin. Pathol*. 1998;51:38-43.
- 118.** Coutlee F, Gravitt P, Kornegay J, Hankins C, Richardson H, Lapointe N, Voyer H, Franco E. Use of PGMY primers in L1 consensus PCR improves detection of human papillomavirus DNA in genital samples. *J Clin Microbiol*. 2002;40:902-907.
- 119.** Szarewski A, Mesher D, Cadman L. Comparison of seven tests for high- grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears:the Predictors 2 study. *J Clin Microbiol*. 2012;50(6):1867-1873.
- 120.** Hwang TS, Jeong JK, Park M, Han HS, Choi HK, Park TS. Detection and typing of HPV genotypes in various cervical lesions by HPV oligonucleotide microarray. *Gynecol Oncol*. 2003;90:51-56.
- 121.** Tucker RA, Unger E, Holloway BP, David C, Swan DC. Realtime PCR-based fluorescent assay for quantification of Human Papillomavirus type 6, 11, 16 and 18. *Mol Diagn*. 2001;6: 39-47.
- 122.** Giroglou T, Sapp M, Lane C, Fligge C, Christensen N, Streeck RE, et al. Immunological analyses of Human Papillomavirus capsids. *Vaccine*. 2001;19:1783-93.
- 123.** Combita AL, Bravo MM, Touze A, Orozco O, Coursaget P. Serologic response to Human oncogenic Papillomavirus type 16, 18, 31, 33, 39, 58 and 59 virus-like particles in colombian women with invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 2002;97:796-803.
- 124.** Kjaer SK, Munk C, Junge J, Iftner T. Carcinogenic HPV prevalence and age- specific type distribution in 40,382 women with normal cervical cytology, ASCUS/LSIL,HSIL, or

- cervical cancer: what is the potential for prevention?. *Cancer Causes Control*. 2014;25:179-189.
- 125.** Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F, Dalla-Palma P, Del Mistro A, De Marco L, et al. Human papillomavirus testing and liquid-based cytology in primary screening of women younger than 35 years: results at recruitment for a randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2006;7:547-55.
- 126.** Ronco G, Cuzick J, Segnan N, Brezzi S, Carozzi F, Folicaldi S, et al. HPV triage for low grade (L-SIL) cytology is appropriate for women over 35 in mass cervical cancer screening using liquid based cytology. *Eur J Cancer*. 2007; 43: 476-80.
- 127.** Wright T, Schiffman M, Solomon D, Cox J, Garcia F, Goldie S, et al. Interim guidance for the use of Human Papillomavirus DNA testing as an adjunct to cervical cytology for screening. *Obstet Gynecol*. 2004;103: 304-9.
- 128.** Clavel C, Dalstein V, Birembaut P. Stratégies de dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus : cytologie ou test HPV?. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2008;405:57-65.
- 129.** Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, et al. Management of women who test positive for high-risk types of Human Papillomavirus: the HART study. *Lancet*. 2003;362:1871-6.
- 130.** Mergui J, Polena V, David-Montefiore E, Uzan S. Recommandations pour la surveillance des patientes traitées pour des lésions de haut grade du col utérin. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2008;37:S121-30.
- 131.** Molden T, Kraus I, Karlsen F, Skomedal H, Nygard JF, Hagmar B, Comparaison of Human Papillomavirus messenger RNA and DNA detection : across-sectional study of 4136 women 430 years of age with a 2-year follow-up of high-grade squamous intraepithelial lesion, *Cancer Epidemiol. Biomark.Prev*. 2005;14:367-372.
- 132.** Phillips S, Cornall A, Machalek DA, Tabrizi S. Comparison of the Roche Cobas® 4800 HPV assay to Digene Hybrid Capture 2, Roche Linear Array and Roche Amplicor for Detection of High-Risk Human Papillomavirus Genotypes in Women undergoing treatment for cervical dysplasia, *Journal of Clinical Virology*. 2015;62:63-65.
- 133.** Cuzick J, Cuschieri K, Denton K, Hopkins M, Thorat MA, Wright C, Cubie H, Moore C, Kleeman M, Austin J, Ashdown-Barr L, Hunt K, Cadman L. Performance of the Xpert HPV assay in women attending for cervical screening. *Papillomavirus Researc*. 2015;32-37.
- 134.** Noel JC, et al. Intérêts et limites des tests HPV utilisés en routine, Collège de gynécologie obstétrique français. 2017, p 229-230.

135. Dubbling N, Crossley J. Sensitivity and specificity of HPV testing: what are the facts ?. *Cytopathology*. 2013;24 :283-8.
136. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM , Apple R, Derion T, Wright TL. The ATHENA Human Papillomavirus study:design,methods,andbaselineresults, *Am. J Obstet Gynecol*. 2012;206(1) :46.e1-46.e11.
137. Kitchener HC, Almonte M, Wheeler P. HPV testing in routine cervical screening: cross sectional data from the ARTISTIC trial. *Br J Cancer*. 2006;95(1):56-61.
138. Screening for cervical cancer, US preventive services task force recommendation statement. *JAMA*. 2018;320(7):674-686.
139. Abryn M, Poljak M et al. Update of the list of HPV assays that fulfill requirements for primary cervical cancer screening. *Clin Microbiol Infect*. 2019;21:817-26.
140. Arbyn M, Snijders P, Meijer J, Berkhof K, Cuschieri B, Kocjan J, Poljak M. Which high-risk HPV assays fulfill criteria for use in primary cancer screening ?. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:817-26.
141. Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, Patnick J, Ronco G, Segnan N, Suonio E, Törnberg S, Anttila A. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination, *Papillomavirus Research*. 2015; 1: 22-31.
142. Hantz S, Alain S, Denis F. Vaccins antipapillomavirus et prévention du cancer du col de l'utérus. *Presse med*. 2005; 34:745-753.
143. Munoz N, Bosch FX, Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D. Against which Human Papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer*. 2004; 111: 278-285.
144. Hagensee M, Yaegashi N, Galloway D. Self-assembly of Human Papillomavirus type 1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins. *J Virol*. 1993; 67: 278-285.
145. Rose RC, Reichmann RC, Bonne W. Human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles induce the formation of neutralizing antibodies and detect HPV specific antibodies in human sera. *J Gen Virol*. 1994; 75: 2075-2079.
146. Schiller JT, Lowy DR. Papillomavirus-Like-Particles and HPV vaccine development. *Semin Cancer Biol*. 1996; 7: 373-382.
147. Centers for Disease Control and Prevention. Human papillomavirus (HPV) vaccine.2014.

148. Centers for Disease Control and Prevention. National and state vaccination coverage among adolescents aged 13-17years – United States, 2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2013;62: 685-693.
149. Markowitz LE, Dunne EF, Sarai M, Chesson HW, Curtis CR, Gee J, Unger ER. Human papillomavirus vaccination: Recommendations from the advisory committee on immunization practices (ACIP). *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2014; 63:1-30.
150. Food and Drug Administration. Product approval-prescribing information. Cervarix [Human Papillomavirus bivalent (types 16 and 18) vaccine, recombinant]. 2014.
151. Food and Drug Administration. FDA approves Gardasil 9 for prevention of certain cancers caused by five additional types of HPV. 2015.
152. American Academy of Family Physicians. Human papillomavirus vaccine. 2014.
153. American Academy of Pediatrics. HPV vaccine recommendations. *Pediatrics*. 2012;129: 602-605.
154. American College of Obstetricians and Gynecologists. Human papillomavirus vaccination. *Obstetrics & Gynecology*. 2006;108: 699-705.
155. Kroger AT, Sumaya CV, Pickering LK, Atkinson WL. General recommendations on immunization. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2011;60:1-61.
156. Human Papillomavirus vaccines: WHO position paper. *weekly epidemiological record*. 2017;19.
157. Kaiser Family Foundation. The HPV vaccine: Access and use in the U.S. 2014.
158. Riethmuller D, Jacquard AC, Lacau St Guily J et al. Potential impact of a nonavalent HPV vaccine on the occurrence of HPV related diseases in France. *BMC Public Health*. 2015;15:453.
159. Bosch FX, Robles C. HPV-FASTER: Combined strategies of HPV vaccination and HPV screening towards a one visit for cervical cancer preventive campaigns, *salud pública de méxico*. 2018;60(6): 612-616.
160. Warner K et al, final efficacy and immunogenicity and safety analyses of a nine-valent Humain Papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years : a randomised, double blind trial. *Lancet*. 2017;390: 2143-2159.
161. Heard I, Tondeur L, Arowas L, Demazoin M, Falguières M, Parent Du Chatelet I, pour le groupe CH1aHPV. Effectiveness of Human Papillomavirus vaccination on prevalence of vaccine genotypes in young sexually active women in France. *J Infect Dis*. 2017;215:757-63.

- 162.** Tabrizi SN, Brotherton JM, Kaldor JM et al. Assessment of herd immunity and cross-protection after a Human Papillomavirus vaccination programme in Australia: a repeat cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 2014;14:958-66.
- 163.** Hamsikova E, Smahelova J, Ludvikova V et al. The prevalence of HPV infections in HPV-vaccinated women from the general population. *APMIS.* 2017;125:585-95.
- 164.** Markowitz LE, Hariri S, Lin C, Dunne EF, Steinau M, McQuillan G, Unger ER. Reduction in Human Papillomavirus (HPV) prevalence among young women following HPV vaccine introduction in the United States, national health and nutrition examination surveys, 2003-2010. *The Journal of Infectious Diseases.* 2013 ;208: 385-393.
- 165.** Wheeler CM, Kjaer SK, Sigurdsson K, Iversen OE, Hernandez-Avila M, Perez G, Brown DR, Koutsky LA et al. The impact of quadrivalent Human Papillomavirus (HPV; types 6,11,16 and18) L1 virus-like particle vaccine on infection and disease due to oncogenic nonvaccine HPV types in sexually active women aged 16-26 years. *J Infect Dis.* 2009; 199(7) : 936-44.
- 166.** Poolman EM, Elbasha EH, Galvani AP. Vaccination and the evolutionary ecology of Human Papillomavirus. *Vaccine.* 2008; 26(Suppl 3): C25-30.
- 167.** Chesson H, Ekwueme DU, Saraiya M, Watson M, Lowy DR, Markowitz LE. Estimates of the annual direct medical costs of the prevention and treatment of disease associated with Human Papillomavirus in the United States. *Vaccine.* 2012 ;30:6016-6019.
- 168.** Armstrong EP. Prophylaxis of cervical cancer and related cervical disease: A review of the cost-effectiveness of vaccination against oncogenic HPV types. *Journal of Managed Care Pharmacy.* 2010;16: 217-230.
- 169.** Campos NG, Sharma M, Clark A, Lee A, Geng F, Regan C, Kim J, Resch S. The health and economic impact of scaling cervical cancer prevention in 50 low-and lower-middle-income countries. *Int J Gynecol Obstet.* 2017; 138 (Suppl. 1): 47-56.
- 170.** Bianchiet FP, Gallone MS, Fortunato F, Bocalini S, Martinelli D, Prato R, Tafuri S. Epidemiology and cost of cervical cancer care and prevention in Apulia (Italy), 2007/2016, *Ann Ig.* 2018; 30: 490-501.
- 171.** Stokley S, Jeyarajah J, Yankey D, Cano M, Gee J, Roark J, Markowitz L. Human Papillomavirus vaccination coverage among adolescents, 2007–2013, and post licensure vaccine safety monitoring, 2006–2014, United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 2014;63: 620-624.

- 172.** Williams WW, Lu P, Saraiya M, Yankey D, Dorell C, Rodriguez JL, Markowitz LE. Factors associated with human papillomavirus vaccination among young adult women in the United States. *Vaccine*. 2013;31: 2937-2946.
- 173.** U.S. Department of Health and Human Services. Immunization and infectious diseases. 2014.
- 174.** Genovese C, La Fauci V, Squeri A, Trimarchi G, Squeri R. HPV vaccine and autoimmune diseases: systematic review and meta-analysis of the literature, *J Prev Med Hyg*. 2018; 59: 194-199.
- 175.** Lazcano-ponce E, Rivera L, Arilli-Santillan E, Salmeron J, Hernandez-Avila M, Munoz N. Acceptability of a Human Papillomavirus (HPV) trial vaccine among mothers of adolescents in Cuenavaca, Mexico. *Arch Med Res*. 2001;32 : 243-7.
- 176.** Watts LA, Joseph N, Wallace M, Rauh-Hain JA, Muzikansky A, Whitfield B et al. HPV vaccine: A comparison of attitudes and behavioral perspectives between Latino and non-Latino women *Gynecologic Oncology*. 2009; 112(3): 577-582.
- 177.** de Carvalho NS, Teixeira LM, Pradel EM, Gabardo J, Joly C, Urbanetz AA. Vaccinating against HPV : physicians and medical students view. *Vaccine*. 2009;27(20): 2637-2640.
- 178.** Jing L, Lian-Kun L, Jun-Fei M, Li-Hui W, Mayinuer N, Chang-Qing L, Ai-Di X, Jian-Bin W, Hao L, Belinson J, LinQia Y. Knowledge and attitudes about Human Papillomavirus (HPV) and HPV vaccines among women living in metropolitan and rural regions of China *Vaccine*. 2009;27(8): 1210-1215.
- 179.** Paavonen J, Halttunen M, Hansson BG, Nieminen P, Rostila T, Lehtinen M. Prerequisites for Human Papillomavirus vaccine trial: results of feasibility studies. *J Clin Virol*. 2000;19: 25-30.
- 180.** Bauchner H. Parental acceptance of the Human Papillomavirus vaccine. *J Adolescent Health*. 2005;37: 248-51.
- 181.** Brabin L, Roberts SA, Farzaneh F, Kitchener HC. Future acceptance of adolescent Human Papillomavirus vaccination : a survey of parental attitude. *Vaccine*. 2006; 24:3087-94.
- 182.** Raley JC, Followwill KA, Zimet GD, et al. Human Papillomavirus vaccination: a survey of fellows of the American College of Obstetricians and Gynecologists. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2004;12: 127-33.
- 183.** Mays R, Zimet GD. Recommending STI vaccination to parents of adolescents : the attitudes of nure practitioners . *Sex Transm Dis*. 2004;31: 428-32.

- 184.** Ohlsen E et al, Parental acceptance of the humain papillomavirus vaccine. *J Adolescent Health.* 2005 ;37: 248-51.
- 185.** Dempsey AF, Zimet GD, Davis RL, Koutsky L. Factors that are associated with parental acceptance of Humain Papillomavirus vaccines: a randomized intervention study of written information about HPV. *Pediatric.* 2006; 117: 1486-93.
- 186.** Zimet GD. Understanding and overcoming barriers to Human Papillomavirus vaccine acceptance. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006;18(suppl 1): S23-8.
- 187.** Davis K, Dickman ED, Ferris D, Dias JK. Human Papillomavirus vaccine acceptability among parents of 10 to 15-year-old adolescent. *J Lower Gen Tract Dis.* 2004;8 : 188-94.
- 188.** Lo B. HPV vaccine and adolescents' sexual activity. *Brit Med. J.* 2006; 332: 1106-7.
- 189.** International Air Transport Association. *Dangerous Goods Regulations, 48th Edition.* 2007.
- 190.** Office national des statistiques. *Recensement de la population algérienne, wilaya de Blida, 2008.*
- 191.** Lignes directrices de l'OMS pour le dépistage et le traitement des lésions précancéreuses pour la prévention du cancer du col de l'utérus. 2014.
- 192.** Boulanger JC, Sevestre H. Tests HPV et dépistage du cancer du col : quelles places?. *Collège Français de Gynécologie Obstétrique.* 2014, p477.
- 193.** Fahey MT, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol.* 1995;141(7): 680-9.
- 194.** Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2000;132(10):810-9.
- 195.** Cox T, Cuzick J. HPV DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies. *Gynecol Oncol.* 2006;103:8-11.
- 196.** Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006;119(5):1095-101.
- 197.** Origoni M, Cristoforoni P, Costa S, Mariani L, Scirpa P, Lorincz A, Sideri M. HPV DNA testing for cervical cancer precursors: from evidence to clinical practice. *Ecancer medical science.* 2012;6:258.

- 198.** Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. *Br J Cancer*. 1996;73:1001-5.
- 199.** Naucler P, Ryd W, Törnberg S, Strand A, Wadell G, Elfgrén K, Rådberg T, Strander B, Forslund O, Hansson BG, Hagmar B, Johansson B, Rylander E, Dillner J. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(2):88-99.
- 200.** Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol*. 1999;189:12-9.
- 201.** Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998; 338:423-8.
- 202.** Tricco AC, Carmen HN, Gilca V, Anonychuk A, Pham B, Berliner S. Canadian oncogenic HPV cervical infection prevalence: systematic review and meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2011;235 : 6-15.
- 203.** Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CM, ALTS Group. A 2-year prospective study of Human Papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis*. 2007; 195:1582-9.
- 204.** Facteurs affectant les résultats du test HPV, Brochure à l'usage des professionnels de santé, version 1. 2012. CNR Papillomavirus, IP paris.
- 205.** Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Muñoz N, Snijders PJF, Vaccarella S, et al. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. Worldwide distribution of Human Papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet Lond Engl*. 2005; 366(9490):991-8.
- 206.** Hammouda D, Clifford GM, Pallardy S, Ayyach G, Chékiri A, Boudrich A et al. Human Papillomavirus infection in a population-based sample of women in Algiers, Algeria, *Int J Cancer*. 2011;128: 2224-2229.
- 207.** Gultekin M, Mujdegul MZ, Kucukyildiz I, Dundar S, Boztas G, Turan HS, Hacikamiloglu E, Murtuza K, Keskinilic B, Sencan I. Initial results of population based cervical cancer screening program using HPV testing in one million Turkish women. *Int J Cancer*. 2018;142: 1952-1958.

- 208.** Ardhaoui M, Ennaifer E, Letaief H et al. Prevalence, genotype distribution and risk factors for cervical Human Papillomavirus infection in the grand Tunis region, Tunisia. *Plos One*. 2016;11(6): e0157432.
- 209.** Shaltout MF, Sallam HN, Seeda MA, Moiety F, Hemeda H, Ibrahim A, Moutaz EL, Sherbini HR, Gopala K, de Antonio R. Prevalence and type distribution of Human Papillomavirus among women older than 18 years in Egypt: a multicenter, observational study, *International Journal of Infectious Diseases*. 2014;29: 226-231.
- 210.** Alhamany Z, El Mzibri M, Kharbach A, Malihy A, Abouqal R, Jaddi H, Benomar A, Attaleb M, Lamalmi N, Cherradi N. Prevalence of Human Papillomavirus genotype among Moroccan women during a local screening program. *J Infect Dev Ctries*. 2010; 4(11):732-739.
- 211.** Učakar V, Poljak M, Klavs I. Pre-vaccination prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus (HPV) types in Slovenian women: A cervical cancer screening based study, *Vaccine*. 2012;30: 116-120.
- 212.** Cristea V.C et al, Prevalence of human papillomavirus genotype in vaccine naïve Romanian women. Poster0745. 29th ECCMID, Avril 2019, Amsterdam, Netherlands.
- 213.** Aleksioska-Papestiev I, Chibisheva V, Micevska M, Dimitrov G. Prevalence of Specific Types of Human Papilomavirus in Cervical Intraepithelial Lesions and Cervical Cancer in Macedonian Women. Original Paper. 2018; 72(1): 26-30.
- 214.** Kaparos G et al, High-risk Papillomavirus genotype distribution in a group of Greek women. 29th ECCMID, Avril 2019, Amsterdam, Netherlands.
- 215.** Feiyan X, Qing G, Xinwen L, Han X, Qian X, Xiuzhen L, Hong S, Xiaojie S, Yuanyuan Z , Chun-Hui Y, Yun X. Distribution characteristics of different Human Papillomavirus genotypes in women in Wuhan, China, *J Clin Lab Anal*. 2018;32:e22581.
- 216.** Ouh YT, Min KJ, Cho HW, Ki M, Oh JK, Shin SY, Hong JH, Lee JK. Prevalence of Human Papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in the Republic of Korea, 2014–2016. *J Gynecol Oncol*. 2018;29(1):e14.
- 217.** Atkinson A, Studwell C, Bejarano S, Castellón AMZ, Arturo J, Espinal P, Deharvengt S, LaRochelle E, Kennedy LS, Tsongalis GT. Rural Distribution of Human Papillomavirus in Low and Middle-Income Countries. *Exp Mol Pathol*. 2018;104:146-150.
- 218.** Mongelos P, Mendoza LP, Rodriguez-Riveros I, Castro A, Gimenez G, Araujo P, et al. Distribution of Human Papillomavirus (HPV) genotypes and bacterial vaginosis presence in cervical samples from Paraguayan indigenous. *International Journal of Infectious Diseases*. 2015;39: 44-49.

- 219.** Tabrizi ST, Brotherton J, Stevens MP, Condon JR, McIntyre P, Smith D, Garland SM. HPV genotype prevalence in Australian women undergoing routine cervical screening by cytology status prior to implementation of an HPV vaccination program. *Journal of Clinical Virology*. 2014;60(3): 250-256.
- 220.** McQuillan G, Kruszon-Moran D et al. Prevalence of HPV in Adults Aged 18–69: United States, 2011–2014, NCHS Data Brief. 2017;280:1-8.
- 221.** Zhou H, Mody DR, Schwartz MR, et al. Genotype-specific prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes in underserved Latino women with abnormal Papanicolaou tests. *J Am Soc Cytopathol*. 2014;3:42-48.
- 222.** Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. GLOBOCAN 2008, cancer incidence and mortality worldwide: IARC CancerBase no. 10. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2010.
- 223.** Kitchener HC, Almonte M, Gilham C, Dowie R, Stoykova B, Sargent A et al. ARTISTIC Trial Study Group ARTISTIC: a randomised trial of human papillomavirus (HPV) testing in primary cervical screening. *Health Technol Assess*. 2009;13: 1-150.
- 224.** Nejo YT, Olaleye DO, Odaibo GN. Prevalence and Risk Factors for Genital Human Papillomavirus Infections Among Women in Southwest Nigeria, *Arch Basic Appl Med*. 2018;6:105-112.
- 225.** Bretagne CH, Jooste V, Guenat D et al, Prevalence and distribution of HPV genotypes and cervical-associated lesions in sexually active young French women following HPV vaccine. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018; 47:525-531.
- 226.** Herrero R, Castle PE, Schiffman M, et al. Epidemiologic profile of type-specific Human Papillomavirus infection and cervical neoplasia in Guanacaste, Costa Rica. *J Infect Dis*. 2005; 191:1796-1807.
- 227.** Lazcano-Ponce E, Herrero R, Munoz N, et al. Epidemiology of HPV infection among Mexican women with normal cervical cytology. *Int J Cancer*. 2001; 91:412-420.
- 228.** de Sanjose S, Diaz M, Castellsague X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007;7:453-459.
- 229.** Althoff KN, Paul P, Burke AE, Viscidi R, Sangaramoorthy M, Gravitt PE. Correlates of cervicovaginal human papillomavirus detection in perimenopausal women. *J Womens Health*. 2009; 18:1341-1346.

- 230.** Maucort-Boulch D, Franceschi S, Plummer M. IARC HPV Prevalence Surveys Study Group. International correlation between human papillomavirus prevalence and cervical cancer incidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17:717-720.
- 231.** Powell NG, Hibbitts SJ, Boyde AM, Newcombe RG, Tristram AJ, Fiander AN. The risk of cervical cancer associated with specific types of HPV a case control study in a UK population. *Int J cancer.* 2011;128(7):1676-82.
- 232.** Souho T, El Fatemi H, Karim S, El Rhazi K, Bouchikhi C, Banani A, Melhouf MA, Benlemlih M, Bennani B. Distribution of Carcinogenic Human Papillomavirus Genotypes and Association to Cervical Lesions among Women in Fez (Morocco). *PLoS One.* 2016 ;11(1):e0146246.
- 233.** Heard I, Tondeur L, Arowas L, Falguières M, Demazoin MC, Favre M. HPV distribution in organised cervical cancer in France. *Plos one.* 2013;8(11):e79372.
- 234.** Chen HC, Schiffman M, Lin CY, Pan MH, You SL, Chuang LC, Hsieh CY, Liaw KL, Hsing AW, Chen CJ; CBCSP-HPV Study Group. Persistence of type specific HPV infection and increased long term risk of cervical cancer. *J natl cancer inst.* 2011 ;103(18):1387-96.
- 235.** Liu Z, Liu W, Liu Y, Ye X, Chen S. Multiple Sexual Partners as a Potential Independent Risk Factor for Cervical Cancer: a Meta-analysis of Epidemiological Studies. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2015; 16(9):3893-3900.
- 236.** Shi R, Devarakonda S, Liu L, Taylor H, Mills G. Factors associated with genital human papillomavirus infection among adult females in the United States, NHANES 2007–2010. *BMC Research Notes.* 2014;7(1):544.
- 237.** Vaccarella S, Herrero R, Dai M, Snijders PJF, Meijer CJ, Thomas JO, Anh PTH, Ferreccio C, Matos E, Posso H, de Sanjose S, Shin HR, et al. Reproductive factors, oral contraceptive use and HPV infection: pooled analysis of the IARC HPV Prevalence Surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006;15:2148-53.
- 238.** Hammouda D, Munoz N, Herrero R, Arslan A, Bouhadeh A, Oublil M, Djedeat B, Fontaniere B, Snijders P, Meijer C, Franceschi S. Cervical carcinoma in Algiers, Algeria: Human Papillomavirus and lifestyle risk factors. *Int J Cancer.* 2005;113:483-9.
- 239.** Franceschi S, Plummer M, Clifford G, de Sanjose S, Bosch X, Herrero R, Munoz N, Vaccarella S. Differences in the risk of cervical cancer and Human Papillomavirus infection by education level. *Br J Cancer.* 2009;101:865-70.
- 240.** International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer. Cervical carcinoma and sexual behavior: collaborative reanalysis of individual data on 15,461

- women with cervical carcinoma and 29,164 women without cervical carcinoma from 21 epidemiological studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009;18:1060-9.
- 241.** Kennedy NT, Ikechukwu D, Goddy B. Risk factors and distribution of oncogenic strains of Human Papillomavirus in women presenting for cervical cancer screening in Port Harcourt, Nigeria *Pan African Medical Journal* 2016;23:85.
- 242.** Moralejo D. Smoking increased risk of cervical cancer, independent of infection with high-risk HPV types. *Evidence-Based Nursing.* 2009; 12(4):122-122.
- 243.** Ghosh M, Rodriguez-Garcia M, Wira CR. The immune system in menopause: pros and cons of hormone therapy. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2014;142:171-5.
- 244.** Xu H, Eggerb S, Velentzisz LS et al. Hormonal contraceptive use and smoking as risk factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in unvaccinated women aged 30–44 years: A case-control study in New South Wales, Australia. *Cancer Epidemiology.* 2018;55:162-169.
- 245.** Traore IA, Zohoncon TM, Dembele A et al. Molecular Characterization of High-Risk Human Papillomavirus in Women in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso. *Biomed Res Int.* 2016;2016:7092583.
- 246.** Lutte contre le cancer : l'Algérie a réalisé des "avancées remarquables". *Radio Algérie news.* 2017.
- 247.** Registre national des cancers en Algérie, Données Épidémiologiques du Réseau National des Registres du Cancer, 2017.

ANNEXE I

**Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida I
Faculté de médecine**

Objet : AVIS ETHIQUE

Nous soussignés, Pr.E.M.SIAHMED et Pr.L.KEDJI, professeurs en médecine membres élus du comité d'éthique de l'université Blida I, représentants la faculté de médecine, certifions avoir examiné la demande du Dr Samira OUKID, microbiologiste, relative au dépistage du Papillomavirus Humain oncogène dans le cadre d'un travail de recherche quant à la lutte contre le cancer du col utérin.

Il s'agit d'études usitées de par le monde .En Algérie, l'équipe de l'INSP du Pr HAMMOUDA et de l'équipe du Pr.AYYACHE ont déjà procédé à ce type de procédé diagnostique.

Cette étude ne pose pas de problème d'éthique.

Blida le 14/07/2019

**Pr EL Mahdi SIAHMED
Membre élu du comité d'éthique
Faculté de médecine**

**C.H.U. Blida
Service d'ophtalmologie
Professeur E.M. SI-AHMED**

**Pr LILA KEDJI
Membre élu du comité d'éthique
Faculté de médecine**

**Pr LILA KEDJI
Chef de service pédiatrie
Unité I.B.B.**

ANNEXE II

وزارة الصحة و السكان و إصلاح المستشفيات

مديرية الصحة و السكان لولاية البليدة

المؤسسة العمومية للصحة الجوارية بأولاد يعيش

رقم: 407 /م.ف.م.ب/م ن /2018.

ترخيص

أنا الممضي أسفله السيد مدير المؤسسة العمومية للصحة الجوارية بأولاد

يعيش أرخص للسيدة(ة) : أوكيد سميرة ، الرتبة : أستاذ مساعد في الميكروبيولوجيا بالمركز


الإستشفائي الجامعي بالبليدة (وحدة حسية بن بو علي) بإجراء تحاليل (HPV) للنساء اللاتي يتم

فحصهن على مستوى كافة الوحدات الصحية التابعة للمؤسسة ، لغرض بحث أسباب الإصابة بسرطان

الرحم ، و ذلك ابتداء من تاريخ 15 مارس 2018.

أولاد يعيش في: 15 MARS 2018

المدير
بمضاء: غالي لفراس
Signé: Ghali LEFRAS



ANNEXE III

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA

CLINIQUE Hassiba BENBOUALI

SERVICE DE GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE

CHEF DE SERVICE

Pr. M. S. OUKID

Tél : 025.32.39.89 / Email : gyn.blida188@gmail.com

AUTORISATION

Je soussigné certifie autoriser le Dr. Samira OUKID maître assistante en microbiologie à effectuer des prélèvements pour le test HPV chez des patientes dans le service.

Cette attestation est délivrée pour servir et valoir ce que de droit.

P/ Le Chef de Service

Dr. M. ZEMOUCHI

المركز الإستشفائي الجامعي - البلدة
وحدة حسيبة بن بوعلي
مسعود زموشي
أستاذ مساعد
طب النساء والتوليد

ANNEXE IV

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Centre Hospitalo-universitaire de Blida
Clinique Hassiba Ben Bouali
Service de laboratoire central

FICHE DE RENSEIGNEMENTS POUR RECHERCHE DE GENOTYPE HPV A HAUT RISQUE DE CANCER DU COL UTERIN

Numéro d'ordre :	Date du prélèvement :
Nom: Prénom: Age: Adresse: Profession: N° de téléphone:	L'âge du premier rapport sexuel: Durée de l'activité sexuelle: Nombre de partenaire : Nombre de grossesse : Voie d'accouchement : Nombre d'avortement : Ménopause : depuis :
Contraception : Orale : DCI/NC : date du début : durée : Autres : durée :	Antécédents familiaux de Kc du col : Lien de parenté :
Utilisation de l'échographie endovaginale : Combien de fois : Natation : Tabagisme : Niveau socio-économique :	Signes gynécologiques : - Leucorrhées - Métrorragie - Signe de vulvo-vaginite
Examen du col utérin : - Normal - ulcération érosion - Inflammatoire - aspect de leucoplasie - Saignant au contact - Ectropion - Autres :	Données ana pathologiques : Résultat cytotologique : Résultat de la colposcopie : Autres : (biopsie/conisation)

Données virologiques : (IPA virologie)	
Présence de HPV :	plusieurs génotypes :
Génotype(s) retrouvé(s) :	

ANNEXE V

FICHE DE RESULTAT

Laboratoire de Papillomavirus –IPA

Date:

RESULTAT TEST HPV

Nom et Prénom :

Age :

Technique utilisée : Détection de l'ADN du Papillomavirus humain HPV par amplification génomique PCR en temps réel (Cobas 4800 Roche) .

Resultats :

Genotype HPV 16 :

Genotype HPV 18 :

Autres Genotypes HPV (31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,66 et 68):

Conclusion:

ANNEXE VI

MATÉRIELS NÉCESSAIRES POUR LE GENOTYPAGE PAR COBAS 4800 TEST

Manipulation des échantillons et des réactifs

- Milieu de collecte de cellules pour PCR cobas® (Roche P/N 05619637190, facultatif)
- Embouts CO-RE, 1 000 µL, portoir de 96 (Roche P/N 04639642001 ou Hamilton P/N 235905)
- Réservoir de réactif de 50 mL (Roche P/N 05232732001)
- Réservoir de réactif de 200 mL (Roche P/N 05232759001)
- Plaque d'extraction (puits profonds) du système cobas® 4800 (Roche P/N 05232716001)
- Plaque AD (micropuits) 0,3 mL du système cobas® 4800 et film scelleur (Roche P/N 05232724001)
- Sac à déchets solides [Roche P/N 05530873001 (petit) ou 04691989001 (grand)]
- Chute à déchets en plastique Hamilton STAR (Roche P/N 04639669001)
- Tubes de 13 mL à bout rond, (Sarstedt P/N 60.541.122) à utiliser comme tubes d'échantillon secondaires
- Bouchons, couleur neutre (Sarstedt P/N 65.176.026); pour reboucher les échantillons après l'analyse dans des tubes Sarstedt à bout rond de 13 mL
- Gants jetables, non poudrés

Instruments et logiciel

- Appareil cobas x 480
- Analyseur cobas z 480
- Unité de contrôle du système cobas® 4800 avec logiciel du système, version 1.0 ou supérieure
- Éditeur d'ordres de travail cobas® 4800, version 0.2.9.0912 ou supérieure

Équipement et matériel facultatif

- Pipettes : capacité de 1 000 µL
- Embouts de protection contre les aérosols exempts de RNase : capacité de 1 000 µL
- Centrifugeuse équipée d'un rotor à godets oscillants avec une FCR minimale de 1 500
- Plaque magnétique autonome (Roche P/N 05440777001)
- Agitateur vortex (un seul tube)
- Agitateur vortex multitubes [p. ex. VWR P/N 58816-116]

ANNEXE VII

MATÉRIEL NÉCESSAIRE POUR LE GENOTYPAGE PAR LINEAR ARRAY TEST

Zone de préamplification – préparation de réactifs

- Pour le GeneAmp® PCR System 9700 à 96 puits dorés d'Applied Biosystems, utiliser les tubes de réaction MicroAmp® (AB# N801-0533), les bouchons (AB# N801-0535 ou AB# N801-0534), plaques/récupérateurs (AB# 403081) ou l'ensemble (AB# 403083) et la base (AB# N801-0531) Ready-pack MicroAmp
- Sac en plastique refermable
- Pipette Eppendorf Multipipette®*
- Eppendorf Combitip® plus 1,0 mL ou 1,25 mL (stérile, enveloppé individuellement)*
- Pipetteurs (capacité 50 µL à 125 µL)* avec embouts à barrière aérosol ou à déplacement positif, exempts d'ADN et de DNase
- Gants jetables, sans poudre

Zone de préamplification – préparation de échantillons et de contrôles

- Pipette Eppendorf Multipipette*
- Eppendorf Combitip plus 1,0 mL et 5,0 mL (stérile, enveloppé individuellement)*
- Pipetteurs (capacité 20 µL, 200 µL et 1000 µL)* avec embouts à barrière aérosol ou à déplacement positif, exempts d'ADN et de DNase
- Tubes à bouchon fileté stériles 2,0 mL (Sarstedt 72.693.005 ou équivalent)
- Portoirs de tubes (Sarstedt 93.1428 ou équivalent)
- Ethanol absolu – conforme aux spécifications d'ACS
- Tubes coniques de polypropylène stérile ; 15 mL et 50 mL : (Corning 430052 et 430290 ou équivalent)
- Pipettes sérologiques jetables stériles (5 mL, 10 mL et 25 mL)
- Pipet-Aid® (Drummond 4-000-100 ou équivalent)
- Microcentrifugeuse (min. FCR 12 500 x g) ; Eppendorf 5415C, HERMLE Z230M ou équivalent
- Mélangeur Vortex
- Blocs à chaleur sèche 56 °C ± 2 °C et 70 °C ± 2 °C
- Distributeur à vide (par exemple, QIAvac 24, n° cat. 19403 ; QIAvac 24 Plus, n° cat. 19413 avec système de connexion QIAvac, n° cat. 19419)
- Source à vide [par exemple, une pompe capable de fournir un vide de -800 à -900 mbar, KNF Neuberger LABOPORT® modèle UN840.3FTP (115 V, 60 Hz) ou modèle N840.3FT.18 (230 V, 50 Hz), ou pompe à vide QIAGEN P/N : 84000 (110 V, 60 Hz), 84010 (115 V, 60 Hz) ou 84020 (230 V, 50 Hz)] avec tube relié au distributeur
- Régulateur à vide (QIAGEN n° cat. 19530), facultatif
- Tubes de collecte (2 mL, QIAGEN n° cat. 19201), facultatif
- Gants jetables, sans poudre

MATÉRIELS NÉCESSAIRES POUR LE GENOTYPAGE PAR LINEAR ARRAY TEST

Zone de postamplification – amplification/détection

- GeneAmp PCR System 9700 à 96 puits dorés (Applied Biosystems, P/N : 4314878)
- Pipettes sérologiques de polystyrène jetables stériles (5 mL, 10 mL et 25 mL)
- Pipetteur multi-canaux (capacité 100 µL)*
- Pipetteurs (capacité 20 µL, 200 µL et 1000 µL)* avec embouts à barrière aérosol ou à déplacement positif, exempts d'ADN et de DNase
- Mélangeur Vortex
- Eau distillée ou déminéralisée
- Bain-marie à agitation à 53 °C ± 2 °C capable de fournir environ 60 tr/m (Bellco Hotshaker Plus, P/N : 774622110 (115 V, 60 Hz) ou P/N : 774622220 (230 V, 50 Hz) ou équivalent)
- Bain-marie à 53 °C ± 2 °C
- Agitateur à mouvement orbital capable de fournir environ de 60 tr/m
- Forceps, acier inoxydable (VWR # : 30033-042 ou équivalent)
- Stylo à encre indélébile résistant à la chaleur, aux produits chimiques et à l'eau (Sharpie® Industriel Super Permanent Marker, P/N : 13801 ou équivalent)
- Appareil d'aspiration à vide avec réservoir de collecte de liquide adéquat (flacon à filtrer avec parois épaisses de marque PYREX® de Corning P/N : 5340-2L ou équivalent)
- Aspirateur/robinet diviseur d'aiguilles à 12 canaux (Art Robbins Instruments, P/N : 102-5020-12)
- Anneau en plomb de poids d'environ 500 g (VWR # : 29700-004 ou équivalent)
- Fioles ou flacons de stockage de 1 L, 2 L, 3 L
- Bécher de 100 mL, 250 mL, 500 mL
- Cylindres gradués de 100 mL, 250 mL, 500 mL, 1 L
- Pipette Eppendorf Multipette*
- Eppendorf Combitip plus 50 mL (stérile, enveloppé individuellement)
- Adaptateur 50 mL Eppendorf Biopur® (P/N : 0030 069.480)
- Solution de nettoyage pour plaque de culture RBS35 (VWR # : PI27952 / Pierce # : 27952)
- Gants jetables, sans poudre

Résumé:

Introduction- Objectif : les infections persistantes à Papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR) sont associées aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus.

Le cancer du col de l'utérus est le quatrième cancer chez la femme en Algérie. Peu de données algériennes sont connues sur le Papillomavirus à haut risque et le cancer du col de l'utérus. Le but de notre travail est de déterminer la prévalence des Papillomavirus Humain à haut risque du cancer du col de l'utérus dans la région de Blida, de connaître la distribution des Papillomavirus Humain à haut risque selon l'âge et selon l'anomalie cytologique.

Patientes et méthodes : les prélèvements cervicaux pour le test HPV sont effectués grâce à une cytobrosse et conservés dans les milieux de transport à +4°C jusqu'à analyse moléculaire.

La recherche des génotypes HPV-HR est effectuée par PCR en temps réel et par PCR en point final, suivi d'une hybridation reverse au laboratoire des Papillomavirus et Herpesviridae ainsi que d'autres à l'Institut Pasteur d'Algérie.

Résultats : entre Janvier 2018 et avril 2019, 453 prélèvements cervicaux sont réalisés et un échantillon de 444 patientes est retenu pour la recherche des HPV-HR. La moyenne d'âge des patientes est de 44 ans [24-84, IC95%=43,43-

45,30]. La prévalence de HPV à haut risque chez la femme blidéenne est de 3% (13/444). Le pic de prévalence quant à lui, est observé chez les femmes âgées entre 40-49 ans. Huit différents génotypes HPV-HR sont retrouvés

: HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45, HPV 52, HPV 56, HPV66 et HPV 68. Les génotypes

prédominants sont HPV 16 suivi de HPV 45, HPV 18, HPV 66 et HPV56. Deux patientes sur 13 avaient une infection avec plusieurs génotypes HPV-HR. Le HPV-HR est retrouvé dans 38% des frottis sans anomalie et les patientes avec des lésions à haut grade HSIL ont 15 fois plus de risque d'avoir un HPV à haut risque [OR= 15.49, p<0.005]. Dans notre étude, les facteurs de risque d'acquisition des HPV-HR sont les partenaires sexuels multiples [OR= 6.16, p<0.007, 95% IC=5.7% - 11.0%] et la nulliparité [OR= 8.53, p<0.033, 95% IC=7.9% - 17.6%]. L'utilisation du dispositif intra-utérin [OR= 0,1, p<0.001, 95% IC=12.5% - 19.2%], la piscine [OR= 0.07, p<0.002, 95% IC=41.4-59.8%] et un seul partenaire sexuel [OR= 0.16, p<6.5.10-3, 95% IC=3.4 - 26.9%] ne représentent pas un facteur de risque d'acquisition de l'infection à HPV-HR.

Conclusion : la prévalence de HPV-HR dans la région de Blida est de 3%. Le taux le plus élevé est observé chez les femmes âgées entre 40-49ans. HPV 16 prédomine et les HPV-HR retrouvés représentent 55% des HPV-HR vaccinaux. La présence de HPV-HR est fortement liée à la présence des lésions HSIL.

Mots Clés: HPV-HR, cancer du col, HPV 16, Test HPV.

Summary:

Introduction-Aim: Persistent high-risk human papillomavirus (HPV-HR) infections are associated with precancerous and cancerous cervical lesions.

Cervical cancer is the fourth most common cancer among women in Algeria. Few Algerian data are known on high-risk HPV and cervical cancer. The purpose of our work is to determine the prevalence of high-risk Human Papillomavirus of cervical cancer in Blida, to know the distribution of high-risk Human Papillomavirus by age and cytological anomaly.

Patients and methods: Cervical samples for HPV testing are taken with a cytobrush and stored in transport media at +4°C until molecular analysis.

The search for HPV-HR genotypes is carried out by real-time PCR and end-point PCR, followed by reverse hybridization at the Papillomavirus and Herpesviridae laboratory and others at the Pasteur Institute in Algeria.

Results: Between January 2018 and April 2019, 453 cervical samples were taken and a sample of 444 patients was selected for HPV-HR testing. The average age of the patients is 44 years[24-84, 95% CI=43.43-45.30]. The prevalence of high-risk HPV among Blidean women is 3% (13/444). The peak prevalence rate is observed in women aged 40-49 years. Eight different HPV-HR genotypes are found: HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 45, HPV 52, HPV 56, HPV66 and HPV 68. The predominant genotypes are HPV 16 followed by HPV 45, HPV 18, HPV 66 and HPV56. Two out of 13 patients had an infection with several HPV-HR genotypes. HPV-HR is found in 38% of smears without abnormality and patients with high-grade HSIL lesions are 15 times more likely to have high-risk HPV[OR= 15.49, p<0.005]. In our study, the acquisition risk factors for HPV-HR are multiple sexual partners [OR= 6.16, p<0.007, 95% CI=5.7% -11.0%] and nulliparity[OR= 8.53, p<0.033, 95% CI=7.9% - 17.6%]. The use of the intrauterine device [OR= 0.1, p<0.001, 95% IC=12.5% - 19.2%], the swimming pool [OR= 0.07, p<0.002, 95% IC=41.4-59.8%] and a single sexual partner [OR= 0.16, p<6.5.10-3, 95% IC=3.4 - 26.9%] do not represent a risk factor for acquisition of HPV infection.

Conclusion: The prevalence of HPV-HR in Blida region is 3%. The highest rate is observed in women aged 40-49 years. HPV 16 predominates and the HPV-HR found represent 55% of the vaccine HPV-HR. The presence of HPV-HR is strongly related to the presence of HSIL lesions.

Keywords: HPV-HR, cervical cancer, HPV 16, HPV test.

Email: oukid.samirachu@gmail.com