

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

## **Papillomavirus : structure virale, génotypes oncogènes et dépistage.**

**Thèse d'exercice**

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en  
pharmacie**

**Session : Juillet 2017**

**Présentée par :**

- ALIOUA Badeaa
- KHEDDAR Lamia
- KOUACHE Lynda

**Devant le jury :**

- Président de jury : BELOUNLR Professeur en microbiologie Unité Frantz Fanon CHU Blida
- Examineur 1 : MAHFOUD.M Maitre assistant en microbiologie Unité Frantz Fanon CHU Blida
- Examineur 2 : ZELTNI.M.L Assistant en immunologie Unité Hassiba Ben Bouali CHU Blida
- Promotrice : OUKID.S Maitre assistante en microbiologie Unité Hassiba Ben Bouali CHU Blida

## *REMERCIEMENTS*

*On dit souvent que plus le combat est grand plus la victoire est immense.*

*Les six années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification de cette citation.*

*A priori, On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.*

*On est redevable au Professeur R. Belouni et au docteur Mahfoud .Nous les remercions pour leurs qualités pédagogiques et scientifiques, leur dévouement pour l'amélioration de la qualité du travail au niveau du département.*

*Veuillez accepter nos sentiments de plus grand respect et de notre profonde reconnaissance.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du Dr.S.OUKID , nous la remercions pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de notre thèse.*

*MRS les Membres de jury, nous tenons également à témoigner notre reconnaissance pour avoir si volontiers accepté de siéger en ce jury.*

*Vous nous avez honorés en acceptant de juger notre travail*

*Nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de cette thèse.*



## *DEDICACES*

*Ce travail est dédié :*

*A mes parents,*

*Pour les énormes sacrifices consentis et pour m'avoir inculqué avec rigueur, amour et patience de belles valeurs humaines et l'amour du travail bien fait. Merci pour tout. Puisse ce travail vous faire honneur.*

*A mon frère, ma sœur, mon beau frère et mes neveux,*

*J'espère que vous trouverez dans ce travail l'expression de mon respect, mon estime et tout mon amour pour vous. Que Dieu tout puissant vous apporte bonheur et santé.*

*A mes chères amies,*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Particulièrement Lynda et Badéaa ; en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*Lamia*

*Je dédie ce travail :*

***A ma très chère mère***

*A la personne qui m'a tout donné sans compter. Merci Maman pour tout ton amour, ta présence, ta patience et ta compréhension. Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Qu'Allah te protège du mal, te procure santé et longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime maman.*

***A la mémoire de mon père, que Dieu ait son âme dans sa sainte miséricorde***

*J'aurai tellement voulu que tu sois toujours parmi nous. Papa, je te dédie le fruit de mes sacrifices en espérant que tu sois fier de moi, de ce que je suis devenue et de ce que j'ai pu accomplir. Je prie pour que le tout puissant nous réunisse dans son vaste paradis inchallah.*

***A ma sœur, à son mari et à mes deux neveux adorés***

*Merci ma sœur pour ton soutien et tes conseils, tu as toujours été pour moi un exemple de courage et de détermination. Qu'Allah protège ta petite famille et vous comble de joie.*

***A mon frère Yacine et ma sœur Lamia***

*Je vous dédie ce travail en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser vos vœux les plus chers.*

***A mes binômes et amies ; Lynda et Lamia***

*Merci les filles pour toutes ces années de complicité, pour tous ces moments passés ensemble, pour vos conseils, votre aide et votre soutien durant tout notre cursus. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de joie, de santé et de réussite.*

***A mon amie Tamadher*** *Tu as été un soutien précieux pour moi tout au long de mes études, je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton aide précieuse.*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.*

***Badéaa***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A Mes chers parents qui ont œuvré pour ma réussite, par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leur précieux conseils, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie, recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A Ma sœur Souad qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail, merci ma chérie que dieu te garde pour moi*

*À Mes deux frères Fouad et Zohir qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité*

*À mon beau frère et ma belle sœur*

*À mon neveu Nazim et ma nièce Ines*

*À mes binômes Badeaa et Lamia pour les merveilleux moments de découverte, de compréhension mutuelle et de leur sincères amitiés.*

*A tous ceux qui m'ont soutenu, encouragé, et qui ont cru en moi ...*

*A Tous mes camarades de promotion*

*Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et reconnaissance*

*Lynda*

## SOMMAIRE

Introduction.....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Historique .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Classification des Papillomavirus .....</b>	<b>4</b>
2.1. Classification basée sur la séquence génomique .....	5
2.2. Classification basée sur le tropisme.....	6
2.3. Classification basée sur le potentiel oncogène .....	6
<b>3. Pouvoir pathogène .....</b>	<b>7</b>
3.1. Epidémiologie des infections à <i>HPV</i> .....	7
3.2. Mode de transmission .....	8
3.2.1. La transmission sexuelle .....	8
3.2.2. La transmission non sexuelle .....	8
3.3. Les différents types d'infections à papillomavirus.....	9
3.3.1. Les verrues .....	9
3.3.2. Les Condylomes anogénitaux .....	10
3.3.3. La papillomatose laryngée .....	10
3.3.4. L'hyperplasie épithéliale focale .....	10
<b>CHAPITRE II : STRUCTURE VIRALE .....</b>	<b>11</b>
<b>1. La capside .....</b>	<b>11</b>
1.1. La protéine L1 .....	11
1.2. La protéine L2 .....	12
<b>2. Le génome .....</b>	<b>12</b>
2.1. Une région E (Early ou précoce) .....	12
2.2. Une région L (Late ou tardive) .....	14
2.3. Une région non codante ou LCR( Long Control Region). .....	14
<b>3. Cycle viral .....</b>	<b>14</b>
3.1. Attachement et endocytose .....	14

3.2. Réplication de l'ADN viral.....	15
3.3. Assemblage et libération .....	16
<b>CHAPITRE III : GENOTYPES ONCOGENES.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Distribution des génotypes oncogènes .....</b>	<b>17</b>
1.1 .Distribution des HPV dans le cancer invasif du col .....	17
1.2 .Distribution des HPV dans les lésions de haut grade .....	18
1.3. Distribution des HPV dans les lésions de bas grade.....	18
<b>2. Facteurs de risque des infections à HPV .....</b>	<b>18</b>
2.1. Facteurs liés au virus .....	18
2.2. Facteurs liés à l'hôte .....	19
2.3. Facteurs environnementaux .....	20
<b>3. Intégration du génome et oncogénèse .....</b>	<b>21</b>
3.1. Définition de l'Oncogénèse .....	21
3.2. L'intégration du génome .....	22
<b>4. Implication des protéines virales dans l'oncogénèse .....</b>	<b>23</b>
4.1. L'oncoprotéine E7 .....	23
4.1.1. Définition .....	23
4.1.2. Rôles de l'oncoprotéine E7 .....	24
4.2. L'oncoprotéine E6 .....	26
4.2.1. Définition .....	26
4.2.2. Rôles de l'oncoprotéine E6 .....	26
<b>5. Les lésions oncogènes dues au papillomavirus.....</b>	<b>29</b>
5.1. Lésions orales et laryngées .....	29
5.2. Lésions cutanées .....	30
5.3. Lésions des muqueuses génitales .....	30
5.3.1. Lésions précancéreuses et cancéreuses du vagin .....	30
5.3.2. Lésions précancéreuses et cancéreuses de la vulve.....	31
5.3.3. Lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin .....	32

<b>CHAPITRE IV : DEPISTAGE DES LESIONS ONCOGENES A HPV<sub>s</sub> .....</b>	<b>34</b>
<b>1. Indication.....</b>	<b>34</b>
<b>2. Intérêt du dépistage .....</b>	<b>34</b>
<b>3. Méthodes de dépistage .....</b>	<b>35</b>
3.1. Le frottis cervico-utérin FCU .....	35
3.2. La colposcopie .....	44
3.3. La biopsie .....	47
3.4. Test HPV .....	48
3.4.1. Conditions à respecter pour la réalisation d'un test HPV en biologie moléculaire .....	48
3.4.2. Méthodes de détection et d'identification .....	49
3.4.2.1. Détection qualitative du génome HPV .....	49
3.4.2.2. Détection quantitative du génome HPV .....	57
3.4.2.3. Détection des ARNm HPV .....	57
<b>CHAPITRE V : LA VACCINATION ANTI HPV.....</b>	<b>59</b>
<b>1. Indications.....</b>	<b>59</b>
1.1. Vaccination des filles.....	59
1.2. Vaccination des garçons .....	59
<b>2. Les types de vaccins .....</b>	<b>60</b>
2.1. Vaccination prophylactique .....	60
2.1.1. GARDASIL .....	62
2.1.2. CERVARIX .....	65
2.2. Vaccination thérapeutique .....	67
<b>3. Impact de la vaccination dans la lutte contre le cancer du col .....</b>	<b>68</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>70</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>71</b>



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. <i>Distribution des types d'HPV selon leur tropisme</i> .....	6
Tableau 2. <i>Classification des HPV selon leur potentiel oncogène</i> .....	6
Tableau 3. <i>Lésions cutanées bénignes à papillomavirus humains (HPV)</i> .....	9
Tableau 4. <i>Schéma de vaccination en fonction de l'âge</i> .....	66

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Arbre phylogénétique des papillomavirus</i> .....	5
Figure 2. <i>Structure de la capside des papillomavirus</i> .....	11
Figure 3. <i>Représentation du genome de l'HPV 16</i> .....	14
Figure 4. <i>L'architecture des cellules épithéliales squameuses stratifiées cervicales et l'expression de protéines de papillomavirus humain (HPV) après infection</i> .....	16
Figure 5. <i>Rôles des oncoprotéines E6 et E7</i> .....	29
Figure 6. <i>Prise en charge des atypies des cellules malpighienne ASC</i> .....	41
Figure 7. <i>Conduite à tenir en cas de frottis cervico-utérin avec lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade (LSIL)</i> .....	42
Figure 8. <i>Conduite à tenir devant un frottis HSIL</i> .....	43
Figure 9. <i>Principe de la technique d'hybridation en phase liquide</i> .....	51
Figure 10. <i>Principe de détection immuno-enzymatique des amplicons HPV</i> .....	52
Figure 11. <i>Principe de génotypage par hybridation inverse sur bandelettes</i> .....	55
Figure 12. <i>Principe de génotypage par hybridation sur puces à ADN</i> .....	56
Figure 13. <i>Principe de génotypage par technique luminex</i> .....	57
Figure 14. <i>Représentation schématique de la production de VLP des HPV et de la vaccination au moyen de ces pseudo-particules virales</i> .....	61
Figure 15. <i>Mécanisme de protection par les anticorps</i> .....	61
Figure 16. <i>Mécanismes de défense par les lymphocytes T</i> .....	68

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ❖ **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ❖ **AGC** : Atypies des cellules glandulaires .
- ❖ **AGC-US** : Atypie malpighienne de signification indéterminée.
- ❖ **AIS** : Adénocarcinome In Situ.
- ❖ **ARN** : Acide ribonucléique.
- ❖ **ARNm** : Acide ribonucléique messenger.
- ❖ **ASC** : Atypie des cellules malpighiennes.
- ❖ **ASC-H** : Atypies des cellules malpighiennes ne permettant pas d'exclure une lésion intraépithéliale de haut grade.
- ❖ **ASC-US** : Atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée.
- ❖ **ATPase** : Adenosine triphosphatase.
- ❖ **CD4** : Cluster de différenciation 4.
- ❖ **Cdk2** : Cyclin-dependent kinase 2.
- ❖ **CIN** : Néoplasies Intraépithéliales Cervicales.
- ❖ **CIS** : Carcinome in situ.
- ❖ **CMH-I** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I.
- ❖ **CR** : Conserved region
- ❖ **DISC** : Death Inducing Signaling Complex.
- ❖ **DIU** : Dispositif intra-utérin.
- ❖ **E6AP**: E6-associated protein.
- ❖ **EGF** : Epidermal growth factor.
- ❖ **ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay.
- ❖ **FCU** : Frottis Cervico-Utérin.
- ❖ **HDACs** : Histones deacétylases de classe I.
- ❖ **HIS** : Hybridation in situ.
- ❖ **HLA**: Human Leukocyte Antigen.
- ❖ **HPV** : Human PapillomaVirus
- ❖ **HPV HR** : HPV à Haut Risque oncogène.
- ❖ **HPV LR** : HPV à Bas Risque oncogène.
- ❖ **HSIL** : Lésions intra-épithéliales de haut grade.
- ❖ **hTERT**: Human telomerase reverse transcriptase.

- ❖ **IARC**: International Agency for Research on Cancer.
- ❖ **IFN- $\alpha$** : Interféron de type  $\alpha$
- ❖ **IM** : Intra musculaire.
- ❖ **IRF-1**: Interferon Regulatory Factor.
- ❖ **ISSVD**: International Society for the Study of Vulvovaginal Disease.
- ❖ **IST** : Infections Sexuellement Transmissibles.
- ❖ **kDa**: kilodalton.
- ❖ **LCR** : Long Control Region.
- ❖ **LSIL** : Lésions intra-épithéliales de bas grade.
- ❖ **MST** : Maladies sexuellement transmissibles.
- ❖ **NASBA** : Nucleic acid sequence based amplification.
- ❖ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- ❖ **ORF** : Phases ouvertes de lecture.
- ❖ **P53** : Protéine 53.
- ❖ **PAL** : Phosphatase alcaline.
- ❖ **PCR** : Réaction de Polymérisation en Chaîne.
- ❖ **POL** : Phases ouvertes de lecture.
- ❖ **pRb** : Protéine du rétinoblastome.
- ❖ **PRR** : Papillomatose respiratoire récidivante.
- ❖ **PV** : Papillomavirus
- ❖ **SV** : Simian virus.
- ❖ **TAP1** : Antigen Peptide Transporter 1.
- ❖ **TNF** : Tumor Necrosis Factor.
- ❖ **UV** : Ultra violet.
- ❖ **VaIN** : Néoplasies Intraépithéliales Vaginales.
- ❖ **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.
- ❖ **VIN** : Néoplasies intraépithéliales vulvaires.
- ❖ **VLP** : Virus Like Particules.

## GLOSSAIRE

- ❖ **Aneuploïdie** : lorsqu'une cellule ne possède pas un nombre normal de chromosomes, et ce suite à une mutation. Cette anomalie peut concerner une absence ou au contraire une surabondance de chromosomes.
- ❖ **Angiogenèse** : processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants, C'est un processus physiologique normal, que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire.
- ❖ **Apoptose** : ou mort cellulaire programmée, est le processus par lequel des cellules s'autodétruisent sous l'impulsion d'un signal, La mort cellulaire est un phénomène naturel génétiquement programmé qui permet l'élimination des cellules inutiles.
- ❖ **Cancer micro invasif**: cancer strictement limité au col de l'utérus, ne dépassant pas 5 mm en profondeur et 7 mm de large ; seul l'examen microscopique permet son diagnostic.
- ❖ **Cancer invasif**: cancer qui s'est propagé au-delà de la couche tissulaire ou il s'est initialement développé, et atteint les tissus adjacents ; aussi appelé cancer infiltrant.
- ❖ **Carcinome in situ** : stade pré-invasif du cancer, affectant toute l'épaisseur de la couche épithéliale qui tapisse ou recouvre un organe (ici, le col de l'utérus), mais sans infiltrer la membrane basale.
- ❖ **Condylomes** : Appelé aussi verrues génitales, ce sont des excroissances indolores touchant la peau ou les muqueuses.
- ❖ **Épithélium** : revêtement composé d'une ou plusieurs couches de cellules ; assure généralement un rôle protecteur de l'organe qu'il tapisse.
- ❖ **Faux négatif** : test normal chez une femme dont le col présente pourtant des anomalies.
- ❖ **Faux positif** : test anormal chez une femme, alors que le col est normal.
- ❖ **Forme épisomale** : forme dans laquelle les molécules circulaires d'ADN extrachromosomiques se multiplient de façon indépendante à l'intérieur de la cellule hôte et se transmettent d'un organisme à un autre.
- ❖ **Immunodéficience** : diminution de la capacité de l'organisme à résister aux attaques de germes infectieux et autres substances étrangères, comme c'est le cas chez les personnes infectées par le VIH.

- ❖ **Koilocytes** : cellule caractérisée par une vacuolisation cytoplasmique périnucléaire avec un cytoplasme périphérique densifié, associée à un noyau augmenté de volume et à une chromatine irrégulière.
- ❖ **Kératinocytes** : cellules majoritaires de l'épiderme riches en kératine, de multiplication rapide, se différenciant de la couche basale à la couche supérieure par différenciation cellulaire.
- ❖ **Néoplasie** : prolifération cellulaire qui présente une organisation structurale et une coordination fonctionnelle faible, voire nulle avec le tissu environnant.
- ❖ **Oncogène** : Gène localisé dans un virus ou dans une cellule de l'organisme et favorisant la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse.
- ❖ **Persistant** : caractère d'une lésion ou d'une maladie qui ne disparaît pas au bout d'un certain temps.
- ❖ **Pléiotropique** : État où un même gène gouverne plusieurs caractères et/ou détermine des effets différents.
- ❖ **Protéasomes** : complexes enzymatiques multiprotéiques retrouvés les eucaryotes dans le cytosol associé au réticulum endoplasmique, leur fonction principale est de dégrader les protéines mal repliées, dénaturées ou obsolètes de manière ciblée par protéolyse .
- ❖ **Télomerase** : enzyme qui, lors de la réplication de l'ADN chez les eucaryotes, permet de conserver la longueur du chromosome en ajoutant une structure spécifique à chaque extrémité : le télomère , le niveau d'activité cellulaire de la télomérase est augmenté dans les cellules cancéreuses, C'est un des facteurs qui contribuent à la prolifération et à l'immortalisation des cellules cancéreuses.

- Alioua Badeaa
- Bad.alioua@gmail.com

- Kheddar Lamia
- Kh.lamiia@gmail.com

- Kouache Lynda
- lyndapharma@outlook.fr

## Résumé

Le *Papillomavirus humain* (HPV) appartient à la famille des *Papillomaviridae*. C'est un virus nu, non cultivable, à capsid icosaédrique qui renferme un génome à ADN bicaténaire circulaire. La réorganisation du génome viral définit plusieurs génotypes et peut expliquer le pouvoir oncogène de HPV. La transmission est essentiellement sexuelle.

Les HPV ont un tropisme exclusif pour les cellules de l'épithélium de la peau et des muqueuses causant des lésions bénignes telles des verrues. Certains génotypes HPV sont associés au développement de lésions malignes. Le potentiel oncogène des HPV à haut risque est lié à leur capacité d'intégrer leur génome au sein à l'ADN cellulaire.

Le HPV est l'agent étiologique principal du cancer du col qui est un véritable problème de santé publique où il occupe la deuxième classe des cancers chez la femme. Les génotypes concernés sont HPV16 et 18.

Le dépistage du cancer du col de l'utérus permet de détecter des lésions précancéreuses et cancéreuses du col et la présence de l'HPV à haut risque oncogène. Il existe, par ailleurs, une vaccination préventive luttant contre les génotypes HPV 16 et 18 impliqués dans le cancer du col de l'utérus. Cette vaccination ne se substitue pas au dépistage.

**Mots clés : papillomavirus – structure virale – génotypes oncogènes -dépistage – vaccination**

## Abstract

The Human Papillomavirus (HPV) belongs to the Papillomaviridae family. it has an icosahedral capsid which contains a circular double-stranded DNA genome. The reorganization of the viral genome defines many genotypes and can explain the oncogenic potency of HPV. The Transmission is essentially direct by a sexual mode.

The Papillomaviruses have an exclusive tropism for cells of the skin's epithelium and mucous membranes causing benign lesions like warts. Some HPV are also associated with the development of malignant lesions, The oncogenic potential of HPV at high risk is closely related to their ability to integrate their genome within the cell genome.

The Human papillomavirus (HPV) is therefore the main etiological agent of cervical cancer which is a real public health problem and occupies the second class of women's cancers. The genotypes concerned are HPV16 and 18.

Cervical cancer screening can detect precancerous and cancerous lesions of the cervix and the presence of high-risk oncogenic HPV. There is also a preventive vaccination against the HPV 16 and 18 genotypes involved in cervical cancer. This vaccination is not a substitute for screening.

**Keywords : papillomavirus – oncogene genotype – cervical cancer –screening – vaccination**

## ملخص

فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) ينتمي إلى عائلة فيروسات الأورام الحليمية. وهو من الفيروسات المجردة، و الغير قابلة للاستنابت، ذو قفيصة متعددة السطوح و التي تحتوي على حمض نووي مزدوج. إن إعادة تنظيم الجينوم الفيروسي تمكن من التعرف على العديد من المورثات مما يفسر القدرة السرطانية لفيروس الورم الحليمي البشري. يتم انتقال عدوى الفيروس عن طريق الاتصال الجنسي.

فيروس الورم الحليمي له تواصل حصري مع خلايا الجلد والأغشية المخاطية مما يتسبب في أمراض حميدة مثل الثآليل. كما يرتبط بعض أنواع HPVs مع تطور الأمراض الخبيثة، إن إمكانيات فيروس الورم الحليمي السرطانية المعرضة للخطر مرتبطة بشكل وثيق بقدرتها على دمج الجينوم الفيروسي في جينوم الخلية.

يعتبر فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) العامل الرئيسي المسبب لسرطان عنق الرحم و الذي يشكل واحدة من أهم المشكلات الصحية العمومية أين يحتل المرتبة الثانية من السرطانات التي تستهدف الإناث الجينات المعنية هما 16 و 18.

إن اختبار فحص سرطان عنق الرحم يمكننا من الكشف عن الخلايا السرطانية و عن وجود فيروس الورم الحليمي السرطاني. علاوة على ذلك، يوجد التطعيم الوقائي للإناث الذي يوفر الحماية ضد فيروس الورم الحليمي البشري 16, 18 و المسببة لتسرطن عنق الرحم. هذا التطعيم لا يحل محل اختبار الفحص.

الكلمات الرئيسية: فيروس الورم الحليمي – الجينات الورمية – سرطان عنق الرحم – الفحص – التلقيح







REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**Papillomavirus : structure virale, génotypes  
oncogènes et dépistage.**

**Thèse d'exercice**

**Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en  
pharmacie**

**Session : Juillet 2017**

**Présentée par :**

- ALIOUA Badeaa
- KHEDDAR Lamia
- KOUACHE Lynda

**Devant le jury :**

- Président de jury : BELOUNLR Professeur en microbiologie Unité Frantz Fanon CHU Blida
- Examinateur 1 : MAHFOUD.M Maitre assistant en microbiologie Unité Frantz Fanon CHU Blida
- Examinateur 2 : ZELTNI.M.L Assistant en immunologie Unité Hassiba Ben Bouali CHU Blida
- Promotrice : OUKID.S Maitre assistante en microbiologie Unité Hassiba Ben Bouali CHU Blida

## *REMERCIEMENTS*

*On dit souvent que plus le combat est grand plus la victoire est immense.*

*Les six années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification de cette citation.*

*A priori, On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce travail.*

*On est redevable au Professeur R. Belouni et au docteur Mahfoud .Nous les remercions pour leurs qualités pédagogiques et scientifiques, leur dévouement pour l'amélioration de la qualité du travail au niveau du département.*

*Veillez accepter nos sentiments de plus grand respect et de notre profonde reconnaissance.*

*Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement du Dr.S.OUKID , nous la remercions pour la qualité exceptionnelle de son encadrement, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant la préparation de notre thèse.*

*MRS les Membres de jury, nous tenons également à témoigner notre reconnaissance pour avoir si volontiers accepté de siéger en ce jury.*

*Vous nous avez honorés en acceptant de juger notre travail*

*Nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de cette thèse.*



## *DEDICACES*

*Ce travail est dédié :*

*A mes parents,*

*Pour les énormes sacrifices consentis et pour m'avoir inculqué avec rigueur, amour et patience de belles valeurs humaines et l'amour du travail bien fait. Merci pour tout. Puisse ce travail vous faire honneur.*

*A mon frère, ma sœur, mon beau frère et mes neveux,*

*J'espère que vous trouverez dans ce travail l'expression de mon respect, mon estime et tout mon amour pour vous. Que Dieu tout puissant vous apporte bonheur et santé.*

*A mes chères amies,*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Particulièrement Lynda et Badéaa ; en témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*Lamia*

*Je dédie ce travail :*

***A ma très chère mère***

*A la personne qui m'a tout donné sans compter. Merci Maman pour tout ton amour, ta présence, ta patience et ta compréhension. Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur ; l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Qu'Allah te protège du mal, te procure santé et longue vie afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime maman.*

***A la mémoire de mon père, que Dieu ait son âme dans sa sainte miséricorde***

*J'aurai tellement voulu que tu sois toujours parmi nous. Papa, je te dédie le fruit de mes sacrifices en espérant que tu sois fier de moi, de ce que je suis devenue et de ce que j'ai pu accomplir. Je prie pour que le tout puissant nous réunisse dans son vaste paradis inchallah.*

***A ma sœur, à son mari et à mes deux neveux adorés***

*Merci ma sœur pour ton soutien et tes conseils, tu as toujours été pour moi un exemple de courage et de détermination. Qu'Allah protège ta petite famille et vous comble de joie.*

***A mon frère Yacine et ma sœur Lamia***

*Je vous dédie ce travail en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous. Puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser vos vœux les plus chers.*

***A mes binômes et amies ; Lynda et Lamia***

*Merci les filles pour toutes ces années de complicité, pour tous ces moments passés ensemble, pour vos conseils, votre aide et votre soutien durant tout notre cursus. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de joie, de santé et de réussite.*

***A mon amie Tamadher*** *Tu as été un soutien précieux pour moi tout au long de mes études, je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton aide précieuse.*

*A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.*

***Badéaa***

*Je dédie ce modeste travail :*

*A Mes chers parents qui ont œuvré pour ma réussite, par leur amour, leur soutien, tous les sacrifices consentis et leur précieux conseils, pour toute leur assistance et leur présence dans ma vie, recevez à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A Ma sœur Souad qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail, merci ma chérie que dieu te garde pour moi*

*À Mes deux frères Fouad et Zohir qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité*

*À mon beau frère et ma belle sœur*

*À mon neveu Nazim et ma nièce Ines*

*À mes binômes Badeaa et Lamia pour les merveilleux moments de découverte, de compréhension mutuelle et de leur sincères amitiés.*

*A tous ceux qui m'ont soutenu, encouragé, et qui ont cru en moi ...*

*A Tous mes camarades de promotion*

*Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et reconnaissance*

*Lynda*

## SOMMAIRE

Introduction.....	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Historique .....</b>	<b>3</b>
<b>2. Classification des Papillomavirus .....</b>	<b>4</b>
2.1. Classification basée sur la séquence génomique .....	5
2.2. Classification basée sur le tropisme.....	6
2.3. Classification basée sur le potentiel oncogène .....	6
<b>3. Pouvoir pathogène .....</b>	<b>7</b>
3.1. Epidémiologie des infections à <i>HPV</i> .....	7
3.2. Mode de transmission .....	8
3.2.1. La transmission sexuelle .....	8
3.2.2. La transmission non sexuelle .....	8
3.3. Les différents types d'infections à papillomavirus.....	9
3.3.1. Les verrues .....	9
3.3.2. Les Condylomes anogénitaux .....	10
3.3.3. La papillomatose laryngée .....	10
3.3.4. L'hyperplasie épithéliale focale .....	10
<b>CHAPITRE II : STRUCTURE VIRALE .....</b>	<b>11</b>
<b>1. La capside .....</b>	<b>11</b>
1.1. La protéine L1 .....	11
1.2. La protéine L2 .....	12
<b>2. Le génome .....</b>	<b>12</b>
2.1. Une région E (Early ou précoce) .....	12
2.2. Une région L (Late ou tardive) .....	14
2.3. Une région non codante ou LCR( Long Control Region). .....	14
<b>3. Cycle viral .....</b>	<b>14</b>
3.1. Attachement et endocytose .....	14

3.2. Réplication de l'ADN viral.....	15
3.3. Assemblage et libération .....	16
<b>CHAPITRE III : GENOTYPES ONCOGENES.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Distribution des génotypes oncogènes .....</b>	<b>17</b>
1.1 .Distribution des HPV dans le cancer invasif du col .....	17
1.2 .Distribution des HPV dans les lésions de haut grade .....	18
1.3. Distribution des HPV dans les lésions de bas grade.....	18
<b>2. Facteurs de risque des infections à HPV .....</b>	<b>18</b>
2.1. Facteurs liés au virus .....	18
2.2. Facteurs liés à l'hôte .....	19
2.3. Facteurs environnementaux .....	20
<b>3. Intégration du génome et oncogénèse .....</b>	<b>21</b>
3.1. Définition de l'Oncogénèse .....	21
3.2. L'intégration du génome .....	22
<b>4. Implication des protéines virales dans l'oncogénèse .....</b>	<b>23</b>
4.1. L'oncoprotéine E7 .....	23
4.1.1. Définition .....	23
4.1.2. Rôles de l'oncoprotéine E7 .....	24
4.2. L'oncoprotéine E6 .....	26
4.2.1. Définition .....	26
4.2.2. Rôles de l'oncoprotéine E6 .....	26
<b>5. Les lésions oncogènes dues au papillomavirus.....</b>	<b>29</b>
5.1. Lésions orales et laryngées .....	29
5.2. Lésions cutanées .....	30
5.3. Lésions des muqueuses génitales .....	30
5.3.1. Lésions précancéreuses et cancéreuses du vagin .....	30
5.3.2. Lésions précancéreuses et cancéreuses de la vulve.....	31
5.3.3. Lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin .....	32

<b>CHAPITRE IV : DEPISTAGE DES LESIONS ONCOGENES A HPV<sub>s</sub> .....</b>	<b>34</b>
<b>1. Indication.....</b>	<b>34</b>
<b>2. Intérêt du dépistage .....</b>	<b>34</b>
<b>3. Méthodes de dépistage .....</b>	<b>35</b>
3.1. Le frottis cervico-utérin FCU .....	35
3.2. La colposcopie .....	44
3.3. La biopsie .....	47
3.4. Test HPV .....	48
3.4.1. Conditions à respecter pour la réalisation d'un test HPV en biologie moléculaire .....	48
3.4.2. Méthodes de détection et d'identification .....	49
3.4.2.1. Détection qualitative du génome HPV .....	49
3.4.2.2. Détection quantitative du génome HPV .....	57
3.4.2.3. Détection des ARNm HPV .....	57
<b>CHAPITRE V : LA VACCINATION ANTI HPV.....</b>	<b>59</b>
<b>1. Indications.....</b>	<b>59</b>
1.1. Vaccination des filles.....	59
1.2. Vaccination des garçons .....	59
<b>2. Les types de vaccins .....</b>	<b>60</b>
2.1. Vaccination prophylactique .....	60
2.1.1. GARDASIL .....	62
2.1.2. CERVARIX .....	65
2.2. Vaccination thérapeutique .....	67
<b>3. Impact de la vaccination dans la lutte contre le cancer du col .....</b>	<b>68</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>70</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>71</b>



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. <i>Distribution des types d'HPV selon leur tropisme</i> .....	6
Tableau 2. <i>Classification des HPV selon leur potentiel oncogène</i> .....	6
Tableau 3. <i>Lésions cutanées bénignes à papillomavirus humains (HPV)</i> .....	9
Tableau 4. <i>Schéma de vaccination en fonction de l'âge</i> .....	66

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Arbre phylogénétique des papillomavirus</i> .....	5
Figure 2. <i>Structure de la capside des papillomavirus</i> .....	11
Figure 3. <i>Représentation du genome de l'HPV 16</i> .....	14
Figure 4. <i>L'architecture des cellules épithéliales squameuses stratifiées cervicales et l'expression de protéines de papillomavirus humain (HPV) après infection</i> .....	16
Figure 5. <i>Rôles des oncoprotéines E6 et E7</i> .....	29
Figure 6. <i>Prise en charge des atypies des cellules malpighienne ASC</i> .....	41
Figure 7. <i>Conduite à tenir en cas de frottis cervico-utérin avec lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade (LSIL)</i> .....	42
Figure 8. <i>Conduite à tenir devant un frottis HSIL</i> .....	43
Figure 9. <i>Principe de la technique d'hybridation en phase liquide</i> .....	51
Figure 10. <i>Principe de détection immuno-enzymatique des amplicons HPV</i> .....	52
Figure 11. <i>Principe de génotypage par hybridation inverse sur bandelettes</i> .....	55
Figure 12. <i>Principe de génotypage par hybridation sur puces à ADN</i> .....	56
Figure 13. <i>Principe de génotypage par technique luminex</i> .....	57
Figure 14. <i>Représentation schématique de la production de VLP des HPV et de la vaccination au moyen de ces pseudo-particules virales</i> .....	61
Figure 15. <i>Mécanisme de protection par les anticorps</i> .....	61
Figure 16. <i>Mécanismes de défense par les lymphocytes T</i> .....	68

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ❖ **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ❖ **AGC** : Atypies des cellules glandulaires .
- ❖ **AGC-US** : Atypie malpighienne de signification indéterminée.
- ❖ **AIS** : Adénocarcinome In Situ.
- ❖ **ARN** : Acide ribonucléique.
- ❖ **ARNm** : Acide ribonucléique messenger.
- ❖ **ASC** : Atypie des cellules malpighiennes.
- ❖ **ASC-H** : Atypies des cellules malpighiennes ne permettant pas d'exclure une lésion intraépithéliale de haut grade.
- ❖ **ASC-US** : Atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée.
- ❖ **ATPase** : Adenosine triphosphatase.
- ❖ **CD4** : Cluster de différenciation 4.
- ❖ **Cdk2** : Cyclin-dependent kinase 2.
- ❖ **CIN** : Néoplasies Intraépithéliales Cervicales.
- ❖ **CIS** : Carcinome in situ.
- ❖ **CMH-I** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I.
- ❖ **CR** : Conserved region
- ❖ **DISC** : Death Inducing Signaling Complex.
- ❖ **DIU** : Dispositif intra-utérin.
- ❖ **E6AP**: E6-associated protein.
- ❖ **EGF** : Epidermal growth factor.
- ❖ **ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay.
- ❖ **FCU** : Frottis Cervico-Utérin.
- ❖ **HDACs** : Histones deacétylases de classe I.
- ❖ **HIS** : Hybridation in situ.
- ❖ **HLA**: Human Leukocyte Antigen.
- ❖ **HPV** : Human PapillomaVirus
- ❖ **HPV HR** : HPV à Haut Risque oncogène.
- ❖ **HPV LR** : HPV à Bas Risque oncogène.
- ❖ **HSIL** : Lésions intra-épithéliales de haut grade.
- ❖ **hTERT**: Human telomerase reverse transcriptase.

- ❖ **IARC**: International Agency for Research on Cancer.
- ❖ **IFN- $\alpha$** : Interféron de type  $\alpha$
- ❖ **IM** : Intra musculaire.
- ❖ **IRF-1**: Interferon Regulatory Factor.
- ❖ **ISSVD**: International Society for the Study of Vulvovaginal Disease.
- ❖ **IST** : Infections Sexuellement Transmissibles.
- ❖ **kDa**: kilodalton.
- ❖ **LCR** : Long Control Region.
- ❖ **LSIL** : Lésions intra-épithéliales de bas grade.
- ❖ **MST** : Maladies sexuellement transmissibles.
- ❖ **NASBA** : Nucleic acid sequence based amplification.
- ❖ **OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.
- ❖ **ORF** : Phases ouvertes de lecture.
- ❖ **P53** : Protéine 53.
- ❖ **PAL** : Phosphatase alcaline.
- ❖ **PCR** : Réaction de Polymérisation en Chaîne.
- ❖ **POL** : Phases ouvertes de lecture.
- ❖ **pRb** : Protéine du rétinoblastome.
- ❖ **PRR** : Papillomatose respiratoire récidivante.
- ❖ **PV** : Papillomavirus
- ❖ **SV** : Simian virus.
- ❖ **TAP1** : Antigen Peptide Transporter 1.
- ❖ **TNF** : Tumor Necrosis Factor.
- ❖ **UV** : Ultra violet.
- ❖ **VaIN** : Néoplasies Intraépithéliales Vaginales.
- ❖ **VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.
- ❖ **VIN** : Néoplasies intraépithéliales vulvaires.
- ❖ **VLP** : Virus Like Particules.

## GLOSSAIRE

- ❖ **Aneuploïdie** : lorsqu'une cellule ne possède pas un nombre normal de chromosomes, et ce suite à une mutation. Cette anomalie peut concerner une absence ou au contraire une surabondance de chromosomes.
- ❖ **Angiogenèse** : processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins (néovascularisation) à partir de vaisseaux préexistants, C'est un processus physiologique normal, que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire.
- ❖ **Apoptose** : ou mort cellulaire programmée, est le processus par lequel des cellules s'autodétruisent sous l'impulsion d'un signal, La mort cellulaire est un phénomène naturel génétiquement programmé qui permet l'élimination des cellules inutiles.
- ❖ **Cancer micro invasif**: cancer strictement limité au col de l'utérus, ne dépassant pas 5 mm en profondeur et 7 mm de large ; seul l'examen microscopique permet son diagnostic.
- ❖ **Cancer invasif**: cancer qui s'est propagé au-delà de la couche tissulaire ou il s'est initialement développé, et atteint les tissus adjacents ; aussi appelé cancer infiltrant.
- ❖ **Carcinome in situ** : stade pré-invasif du cancer, affectant toute l'épaisseur de la couche épithéliale qui tapisse ou recouvre un organe (ici, le col de l'utérus), mais sans infiltrer la membrane basale.
- ❖ **Condylomes** : Appelé aussi verrues génitales, ce sont des excroissances indolores touchant la peau ou les muqueuses.
- ❖ **Épithélium** : revêtement composé d'une ou plusieurs couches de cellules ; assure généralement un rôle protecteur de l'organe qu'il tapisse.
- ❖ **Faux négatif** : test normal chez une femme dont le col présente pourtant des anomalies.
- ❖ **Faux positif** : test anormal chez une femme, alors que le col est normal.
- ❖ **Forme épisomale** : forme dans laquelle les molécules circulaires d'ADN extrachromosomiques se multiplient de façon indépendante à l'intérieur de la cellule hôte et se transmettent d'un organisme à un autre.
- ❖ **Immunodéficience** : diminution de la capacité de l'organisme à résister aux attaques de germes infectieux et autres substances étrangères, comme c'est le cas chez les personnes infectées par le VIH.

- ❖ **Koilocytes** : cellule caractérisée par une vacuolisation cytoplasmique périnucléaire avec un cytoplasme périphérique densifié, associée à un noyau augmenté de volume et à une chromatine irrégulière.
- ❖ **Kératinocytes** : cellules majoritaires de l'épiderme riches en kératine, de multiplication rapide, se différenciant de la couche basale à la couche supérieure par différenciation cellulaire.
- ❖ **Néoplasie** : prolifération cellulaire qui présente une organisation structurale et une coordination fonctionnelle faible, voire nulle avec le tissu environnant.
- ❖ **Oncogène** : Gène localisé dans un virus ou dans une cellule de l'organisme et favorisant la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse.
- ❖ **Persistant** : caractère d'une lésion ou d'une maladie qui ne disparaît pas au bout d'un certain temps.
- ❖ **Pléiotropique** : État où un même gène gouverne plusieurs caractères et/ou détermine des effets différents.
- ❖ **Protéasomes** : complexes enzymatiques multiprotéiques retrouvés les eucaryotes dans le cytosol associé au réticulum endoplasmique, leur fonction principale est de dégrader les protéines mal repliées, dénaturées ou obsolètes de manière ciblée par protéolyse .
- ❖ **Télomerase** : enzyme qui, lors de la réplication de l'ADN chez les eucaryotes, permet de conserver la longueur du chromosome en ajoutant une structure spécifique à chaque extrémité : le télomère , le niveau d'activité cellulaire de la télomérase est augmenté dans les cellules cancéreuses, C'est un des facteurs qui contribuent à la prolifération et à l'immortalisation des cellules cancéreuses.

- Alioua Badeaa
- Bad.alioua@gmail.com

- Kheddar Lamia
- Kh.lamiia@gmail.com

- Kouache Lynda
- lyndapharma@outlook.fr

## Résumé

Le *Papillomavirus humain* (HPV) appartient à la famille des *Papillomaviridae*. C'est un virus nu, non cultivable, à capsid icosaédrique qui renferme un génome à ADN bicaténaire circulaire. La réorganisation du génome viral définit plusieurs génotypes et peut expliquer le pouvoir oncogène de HPV. La transmission est essentiellement sexuelle.

Les HPV ont un tropisme exclusif pour les cellules de l'épithélium de la peau et des muqueuses causant des lésions bénignes telles des verrues. Certains génotypes HPV sont associés au développement de lésions malignes. Le potentiel oncogène des HPV à haut risque est lié à leur capacité d'intégrer leur génome au sein à l'ADN cellulaire.

Le HPV est l'agent étiologique principal du cancer du col qui est un véritable problème de santé publique où il occupe la deuxième classe des cancers chez la femme. Les génotypes concernés sont HPV16 et 18.

Le dépistage du cancer du col de l'utérus permet de détecter des lésions précancéreuses et cancéreuses du col et la présence de l'HPV à haut risque oncogène. Il existe, par ailleurs, une vaccination préventive luttant contre les génotypes HPV 16 et 18 impliqués dans le cancer du col de l'utérus. Cette vaccination ne se substitue pas au dépistage.

**Mots clés : papillomavirus – structure virale – génotypes oncogènes -dépistage – vaccination**

## Abstract

The Human Papillomavirus (HPV) belongs to the Papillomaviridae family. It has an icosahedral capsid which contains a circular double-stranded DNA genome. The reorganization of the viral genome defines many genotypes and can explain the oncogenic potency of HPV. The transmission is essentially direct by a sexual mode.

The Papillomaviruses have an exclusive tropism for cells of the skin's epithelium and mucous membranes causing benign lesions like warts. Some HPV are also associated with the development of malignant lesions. The oncogenic potential of HPV at high risk is closely related to their ability to integrate their genome within the cell genome.

The Human papillomavirus (HPV) is therefore the main etiological agent of cervical cancer which is a real public health problem and occupies the second class of women's cancers. The genotypes concerned are HPV16 and 18.

Cervical cancer screening can detect precancerous and cancerous lesions of the cervix and the presence of high-risk oncogenic HPV. There is also a preventive vaccination against the HPV 16 and 18 genotypes involved in cervical cancer. This vaccination is not a substitute for screening.

**Keywords : papillomavirus – oncogene genotype – cervical cancer –screening – vaccination**

## ملخص

فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) ينتمي إلى عائلة فيروسات الأورام الحليمية. وهو من الفيروسات المجردة، و الغير قابلة للاستنبات، ذو قفيصة متعددة السطوح و التي تحتوي على حمض نووي مزدوج. إن إعادة تنظيم الجينوم الفيروسي تمكن من التعرف على العديد من المورثات مما يفسر القدرة السرطانية لفيروس الورم الحليمي البشري. يتم انتقال عدوى الفيروس عن طريق الاتصال الجنسي.

فيروس الورم الحليمي له تواصل حصري مع خلايا الجلد والأغشية المخاطية مما يتسبب في أمراض حميدة مثل الثآليل. كما يرتبط بعض أنواع HPV مع تطور الأمراض الخبيثة، إن إمكانيات فيروس الورم الحليمي السرطانية المعرضة للخطر مرتبطة بشكل وثيق بقدرتها على دمج الجينوم الفيروسي في جينوم الخلية.

يعتبر فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) العامل الرئيسي المسبب لسرطان عنق الرحم و الذي يشكل واحدة من أهم المشكلات الصحية العمومية أين يحتل المرتبة الثانية من السرطانات التي تستهدف الإناث الجينات المعنية هما 16 و 18.

إن اختبار فحص سرطان عنق الرحم يمكننا من الكشف عن الخلايا السرطانية و عن وجود فيروس الورم الحليمي السرطاني. علاوة على ذلك، يوجد التطعيم الوقائي للإناث الذي يوفر الحماية ضد فيروس الورم الحليمي البشري 16, 18 و المسببة لسرطان عنق الرحم. هذا التطعيم لا يحل محل اختبار الفحص.

الكلمات الرئيسية: فيروس الورم الحليمي – الجينات الورمية – سرطان عنق الرحم – الفحص – التلقيح







## **Introduction :**

Les papillomavirus sont des virus très résistants infectant l'espèce humaine (human papillomavirus). Plus de 200 génotypes de PV ont été répertoriés, regroupés en genres et en espèces. [68] Ces petits virus à ADN se transmettent essentiellement par voie sexuelle et infectent spécifiquement les épithéliums de la peau ou des muqueuses. Ils induisent généralement des lésions hyperprolifératives bénignes telles que verrues, papillomes ou condylomes. Cependant, certains types de papillomavirus humains sont associés à des tumeurs malignes, notamment le cancer du col de l'utérus. [88]

Le cancer du col représente le 2ème cancer féminin après le cancer du sein ; ce cancer présente une particularité biologique ; Il est considéré comme la seule tumeur humaine quasi totalement viro-induite. [24] Il est toujours précédé par des lésions précancéreuses qui se développent lentement, justifiant ainsi la prévention par le dépistage. [64]

Actuellement, le test de dépistage de référence est le frottis cervico-utérin pratiqué tous les trois ans à l'initiative de la patiente ou de son médecin. Même s'il a permis de diminuer fortement les taux de mortalité dus au cancer du col, ce moyen de dépistage ne reste pas assez fiable avec de nombreuses lésions non détectées et pas assez suivies avec de nombreuses patientes mal ou non dépistées. [64]

D'autres moyens comme l'organisation du dépistage ou encore les tests HPV se mettent peu à peu en place pour parfaire ce dépistage. Ces dernières années, les moyens de prévention se sont enrichis avec l'arrivée de deux vaccins prophylactiques s'ajoutant ainsi à la prévention par le dépistage. Ces vaccins sont dirigés contre les deux types d'HPV rencontrés dans la plupart des cancers du col, les types 16 et 18. [64]

Même si une importante réduction d'incidence du cancer du col a été observée aux cours des dernières décennies, notamment grâce au dépistage, la maladie n'a pas encore été totalement éradiquée. Pourtant, le cancer du col de l'utérus est décrit comme un cancer évitable. Cette thèse a pour but de montrer les moyens qui pourraient être mis en place afin que ce cancer se fasse de plus en plus rare. [64]

Dans le cadre de ce travail, une première partie porte sur des généralités sur les papillomavirus, classification, transmission et les manifestations cliniques de l'infection à *HPV*.

La 2ème partie s'intéresse à la structure des HPV et au cycle viral.

La 3ème partie présente la distribution des HPV, les facteurs de risques favorisant l'apparition des infections, ainsi que les lésions oncogènes dues aux papillomavirus, dans cette partie nous abordons notamment les protéines E6 et E7 impliquées dans la carcinogénèse.

La 4ème partie porte sur le dépistage du cancer du col, indication, intérêt et les différents moyens.

Pour terminer, la 5ème partie s'intéresse à la vaccination anti HPV.

# CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES *PAPILLOMAVIRUS HUMAINS*

## 1. Historique :

Les papillomavirus constituent une vaste famille de plus de 200 petits virus à ADN non enveloppés, non cultivables, capables d'infecter l'Homme et de nombreux mammifères, avec une spécificité d'espèce étroite. Leur tropisme est strictement épithélial et on distingue, comme appartenant à des genres différents, papillomavirus muqueux et papillomavirus cutanés. Ils sont responsables de tumeurs bénignes et malignes chez l'homme et chez l'animal et ont été à l'origine du premier modèle de tumeur liée à un virus à ADN, découvert en 1920 par Shope chez le lapin. [75]

En 1933, R. Shope décrit la papillomatose du lapin sauvage. Il en prouve la nature contagieuse en appliquant, au niveau de scarifications de plusieurs lapins de laboratoire, une suspension préparée à partir de lésions verruqueuses. [15]

En 1935, P. Rous , démontre que les papillomes cutanés chez le lapin peuvent évoluer vers un carcinome après une longue période de latence . [4]

En 1950, M.J. Strauss confirme les travaux de R. Shope ; il observe en microscopie électronique des particules semblables à des virus dans des papillomes cutanés. [27]

En 1962, J.L. Melnick rassemble sous le nom de papovavirus ou *Papovaviridae*, des virus présentant des caractéristiques physiques et biologiques, et des propriétés tumorigènes semblables. Ces papovavirus regroupent les virus du papillome du lapin et des papillomes humains, le virus du polyome et le virus vacuolisant du singe dénommé aussi SV40 (*simian virus*). D'autres virus ont successivement intégré ce groupe. [15]

Les papovaviridae ont été récemment divisés en deux familles : les polyomaviridae et les papillomaviridae.

Les papillomavirus (HPV) (du latin *papilla*, diminutif de *papula* signifiant bouton, et du suffixe grec -ome, désignant le caractère tumoral) sont responsables, chez l'homme, d'une grande variété de lésions cutanées et muqueuses rassemblées sous le nom de papillomes viraux en raison de leur aspect papillomateux et de leur origine virale : verrues cutanées et anogénitales, papillomes oraux et laryngés, épidermodysplasie verruciforme. [15]

Les papillomavirus ont été mis en évidence par des approches moléculaires au milieu des années 1970 par le Professeur allemand Zur Hausen .

Dans les années 1980, l'attention s'est portée progressivement vers ce nouveau candidat, l'HPV, avec de solides preuves issues de la biologie moléculaire impliquant certains types du virus comme agents responsables de la transformation cellulaire. Les nombreux travaux qui ont suivi ont montré la diversité des HPV. [81]

Depuis 1983, de nombreux travaux fondamentaux et épidémiologiques ont confirmé le rôle majeur du papillomavirus humain (HPV) de type 16, en particulier dans la carcinogenèse du col utérin. [75]

En 1995, l'IARC (International Agency for Research on Cancer) classe les HPV 16 et 18 comme agents carcinogènes à haut risque chez les humains.

Facteur étiologique des cancers du col de l'utérus, les HPV à haut risque se sont également avérés associés avec d'autres cancers, du tractus anogénital, du vagin, de vulve, du pénis, du canal anal, leur rôle est suggéré dans des cancers situés au niveau d'autres sites anatomiques, comme la tête et le cou, les voies aérodigestives supérieures, et la peau. [81]

## **2. Classification des *Papillomavirus* :**

Les Papillomavirus regroupent une multitude de virus capables d'infecter un large spectre d'hôtes, dont l'être humain. À ce jour, quelques 100 types d' HPV parmi les centaines de Papillomavirus détectés ont été décrits et séquencés.

Traditionnellement, les Papillomavirus furent classés dans la même famille que les polyomavirus, les Papovaviridae, d'après la similitude de leur structure capsidique et génomique. Néanmoins, les études approfondies de leur génome respectif confirmèrent les divergences au niveau de la taille, de l'organisation génomique et de la séquence nucléotidique. Dès lors, les Polyomavirus et les Papillomavirus furent classés en deux familles distinctes : les *Polyomaviridae* et les *Papillomaviridae*.

On peut également différencier les Papillomavirus sur la base de leur séquence nucléotidique, de leur tropisme ou de leur pouvoir oncogène. [81]

## 2.1. Classification basée sur la séquence génomique :

Cette classification est basée sur la comparaison de la séquence nucléotidique du gène L1, le plus conservé. 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.

Une différence de 2 à 10 % définit l'appartenance à un sous-type et une différence de moins de 2 % définit un variant. Ainsi, les virus initialement dénommés HPV 46, HPV 55 et HPV 64 sont maintenant considérés comme les sous-types respectifs de HPV 20, HPV 44 et HPV 34, en raison d'homologies supérieures à 90 %.

Les différents types de papillomavirus sont regroupés en espèces qui sont désignées par un numéro d'espèce ; une espèce regroupe les types présentant une homologie de séquence L1 supérieure à 70 %. Les différentes espèces sont regroupées en genres (alpha papillomavirus, beta-papillomavirus, etc.).

L'appartenance à un même genre est définie par une homologie de séquence L1 supérieure à 60 %. Les HPV se répartissent dans les genres alpha-papillomavirus, beta-papillomavirus, gamma-papillomavirus, mu-papillomavirus et nu-papillomavirus. [74]

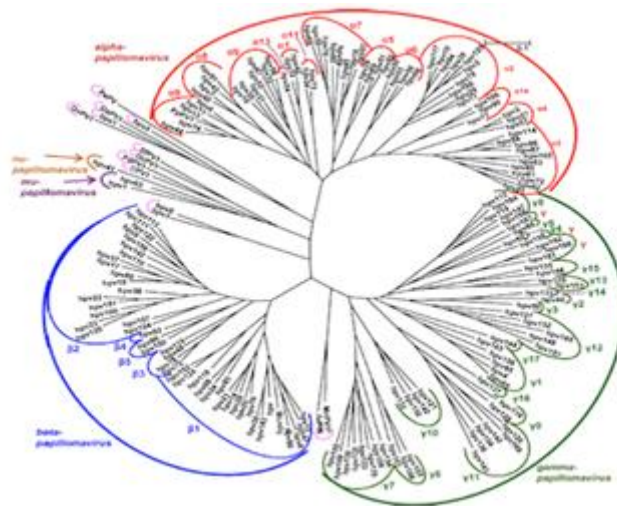


Figure 1. Arbre phylogénétique des papillomavirus. [82]

## 2.2. Classification basée sur le tropisme :

On distingue habituellement les types HPV à tropisme cutané et ceux à tropisme muqueux. Cette distinction n'est pas toujours absolue, certains types d'HPV n'ayant pas un tropisme strict pour la peau ou les muqueuses (tableau I). Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus, alors que les HPV à tropisme cutané appartiennent essentiellement aux genres beta-papillomavirus et gamma-papillomavirus ainsi qu'aux genres mu-papillomavirus et nu-papillomavirus. [74]

Tropisme	Type
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

**Tableau I :** Distribution des types d'HPV selon leur tropisme. [74]

## 2.3. Classification basée sur le potentiel oncogène :

Le tableau II présente la répartition des principaux types d'HPV en fonction de leur potentiel oncogène. Il est à noter que cette répartition ne prend en considération que les HPV à tropisme muqueux, cette classification étant basée sur le risque de cancer du col de l'utérus associé à HPV.

En ce qui concerne les HPV à tropisme cutané, il n'y a pas actuellement de classification en virus à bas risque ou haut risque, bien que certains types d'HPV cutanés soient indiscutablement associés au développement de carcinomes cutanés. [74]

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

**Tableau II :** Classification des HPV ano-génitaux selon leur potentiel oncogène. [74]

### 3. Pouvoir pathogène :

#### 3.1. Epidémiologie des infections à HPV :

D'après l'OMS (Organisation Mondiale de Santé), la prévalence mondiale des infections aux HPV est estimée à 660 millions de personnes infectées.

L'infection par HPV est considérée comme IST la plus répandue dans le monde.

L'étude épidémiologique menée par l'IARC (International Agency for Research on cancer) sur 15000 femmes issues de 11 pays (Niger, Inde, Vietnam, Thaïlande, Corée, Colombie, Argentine, Chili, Pays-Bas, Italie et Espagne), montre que, tous âges confondus, la plus faible prévalence d'infection à HPV est retrouvée en Espagne (1,4%) et la plus élevée au Niger (25,6%). La prévalence en Amérique du Sud (14,3%) est intermédiaire par rapport à l'Europe (10,5%) et l'Afrique (25,8%). [17]

La prévalence des HPV selon l'âge culminait dans les tranches d'âge les plus jeunes (<25 ans), avec des valeurs de 21,8% pour le chiffre brut et de 24,0% pour le chiffre ajusté, puis atteignait un plateau plus bas aux âges moyens. En Amérique centrale et en Amérique du Sud, une augmentation de cette prévalence dans les tranches d'âge les plus vieilles ( $\geq 45$  ans) a été attestée. Dans certains pays à faible revenu d'Asie et d'Afrique, la prévalence des HPV reste très similaire chez les femmes dans toutes les tranches d'âge.

Les génotypes à bas risque (HPV 6, HPV 11) sont responsables de la majorité des lésions bénignes muqueuses associées aux HPV (condylomes, papillomes). [102]

Les HPV muqueux à haut risque regroupent une quinzaine de génotypes ; cependant, les HPV 16 et HPV 18 sont à eux seuls impliqués dans 70 % des cancers du col utérin .de nombreuses études ont montré que les femmes infectées par les HPV à haut risque ont un risque élevé de progression vers une CIN(Néoplasie Intraépithéliale Intracervicale) par rapport à celles infectées par les HPV à bas risque et une incidence marquée de cancers du col par rapport aux femmes non infectées.

La prévalence des génotypes à haut risque varie selon la zone géographique, sur une série de cancers invasifs provenant de 22 pays (Amérique, Europe, Afrique, Asie), la prévalence de l'HPV 16 est prédominante (50-60 %), suivie de celle de l'HPV 18 (10-12 %), de l'HPV 31 et 45 (4-5 % chacun), de l'HPV 33 (3 %)... En Amérique du Nord et en Europe, environ 70 % des cancers du col utérin sont associés aux HPV 16-18 et en Asie du Sud-est, les HPV 18 sont présents avec une fréquence élevée de 32 %. [16]

### **3.2. Mode de transmission :**

L'infection à papillomavirus représente l'infection sexuellement transmissible la plus fréquente au monde avec l'herpès génital et les infections à Chlamydia trachomatis bien qu'il existe d'autres modes de transmission moins fréquents. [93]

#### **3.2.1. La transmission sexuelle :**

La voie sexuelle représente la voie principale de contamination. Les papillomavirus se transmettent par contact cutanéomuqueux direct à l'occasion d'une relation sexuelle avec un partenaire infecté [102], le virus accède aux cellules basales de l'épithélium par des microlésions dans l'épithélium malpighien ou glandulaire. Il se réplique dans l'épithélium du pénis ou de l'urètre, et peut être véhiculé par le sperme dans lequel est détecté l'ADN HPV.

Même un acte sans pénétration (indirecte) peut être à l'origine d'une infection à HPV car ces derniers sont également retrouvés dans les sécrétions génitales et les poils pubiens qui peuvent migrer au niveau du col. [23]

La transmission est favorisée par :

- Une activité sexuelle précoce
- Un grand nombre de partenaires sexuels.
- Antécédents d'autres IST( infections sexuellement transmissibles).
- Le type de rapport sexuel.

Certains facteurs favorisent la persistance de l'infection tels que : le tabagisme ; l'immunodépression acquise (VIH, immunosuppresseurs) ; l'immaturation du col utérin ; la production inadaptée du mucus cervicale. [5]

#### **3.2.2. La transmission non sexuelle :**

##### **a. Transmission horizontale :**

Elle se fait par l'intermédiaire d'objets contaminés : Speculum, échographie endovaginale , linge contaminé, bain avec un individu contaminé, sol contaminé des piscines ... ce mode de transmission s'explique par la grande résistance de la capsid de ce virus nu dans le milieu extérieur, qui résiste à la congélation et la dessiccation. [97]



## b. Transmission verticale mère-enfant :

- Une contamination in utero par passage transplacentaire des virus ; ce fait est expliqué par la présence d'ADN viral dans le liquide amniotique. les HPVs ne sont pas transmis par voie sanguine.

- Une contamination pendant l'accouchement est aussi possible par voie basse. Ces types de transmission sont possibles mais restent rares. [35]

## 3.3. Les différents types d'infections à papillomavirus :

### 3.3.1. Les verrues :

Lésions cutanées bénignes dont la prolifération est induite par les HPV, les verrues se différencient les unes des autres par leur aspect clinique, par leur localisation anatomique et par le type d'HPV responsable de la lésion (Tableau 1). La charge virale est élevée au sein des lésions, favorisant leur contagiosité. [9]

Forme clinique	Type d'HPV prédominant	Localisation	Aspect clinique
Verrue vulgaire	2, 27, 57	Dos des mains, doigts, ongles	Lésions uniques ou multiples, hémisphériques, exophytiques ; avec saillies villosités hyperkératosiques
Verrues des bouchers	7	Mains	Lésions multiples hémisphériques exophytiques avec saillies villosités hyperkératosiques
Myrmécie	1	Plantaires	Lésion unique endophytique avec anneau hyperkeratosique, surface ponctuée de point noirâtre (microhémorragie)
Mosaïque	2	Plante, paume, péri-unguéal	Lésions multiples légèrement saillantes, polygonales et hyperkeratosiques
Filiforme	2	Face, péri-buccale, zone de rasage, cuir chevelu	Lésions multiples filiformes, exophytiques
Plane	3	Face, dos de main, doigts	Lésions multiples papuleuses, pigmentées

Tableau III : Lésions cutanées bénignes à papillomavirus humains (HPV) [9]

### **3.3.2. Les Condylomes anogénitaux :**

Les condylomes anaux, ou « crêtes de coq » ou verrues anogénitales représentent la première maladie sexuellement transmissible dans le monde. Ils sont dus à une infection par des Papillomavirus Humains.

Les localisations les plus fréquentes des condylomes externes chez la femme sont la partie postérieure de l'orifice vaginal et des lèvres adjacentes et peuvent impliquer d'autres parties de la vulve, du périnée et de l'anus, mais rarement des cuisses. Le vagin (les tiers supérieurs et inférieurs) peut être atteint et, plus rarement, le col.

L'infection par le HPV se manifeste habituellement par des proliférations en forme de chou-fleur, mais elle peut avoir d'autres conséquences : des lésions plates et lisses (pigmentées ou non pigmentées), des verrues papulaires (papules en forme de dôme et de couleur chair), des verrues kératosiques (épaisses et croûteuses) ; l'infection peut également passer inaperçue. [68]

### **3.3.3. La papillomatose laryngée :**

La papillomatose laryngée ou PRR (papillomatose respiratoire récidivante) se caractérise par le développement de lésions prolifératives exophytiques des papillomes, au niveau de la muqueuse des voies aériennes.

Le papillomavirus humain a été reconnu comme agent causal, les types 6 et 11 (non oncogène) étant les plus fréquemment impliqués. Ce qui veut dire que le risque de transformation cancéreuse est en principe très faible. Mais, à côté des formes de papillomatoses associées aux HPV non oncogènes, il existe sporadiquement des papillomatoses laryngées liées à des HPV-HR (à haut risque oncogène), essentiellement l'HPV 16, avec un risque très augmenté de transformation en dysplasies de haut grade, en carcinome in situ ou en carcinome épidermoïde infiltrant, il y a de plus quelques exemples de transformation de papillomatose associée à des HPV de bas grade. [26]

### **3.3.4. L'hyperplasie épithéliale focale :**

L'hyperplasie épithéliale focale est caractérisée par de multiples papules de la muqueuse buccale (lèvres, joue, langue) de couleur rosée ou opaline ou des nodules sessiles, souvent multiples, indolores à surface lisse, localisés sur la muqueuse jugale et la lèvre inférieure. Elle atteint essentiellement les enfants et les adolescents. Les HPV13 et 32 ont un tropisme quasi exclusif pour la muqueuse de la cavité buccale à l'inverse des autres HPV. [26]

## CHAPITRE2 : STRUCTURE VIRALE

Les HPV sont des virus de petite taille (entre 45 et 55 nm de diamètre), non cultivables, et nus donc très résistants aux conditions environnementales et physicochimiques, en particulier le froid, les solvants organiques et les détergents. Ils sont peu sensibles à la chaleur ou au chlore utilisé dans les piscines. [50] [66]

### 1. La capsid :

La capsid des HPV à symétrie icosaédrique est constituée de 360 molécules L1 (protéine majeure) en association avec 12 copies de la protéine L2 par virion. Elle comporte 72 capsomères, chacun est formé de 5 protéines L1 et une molécule L2. [44]

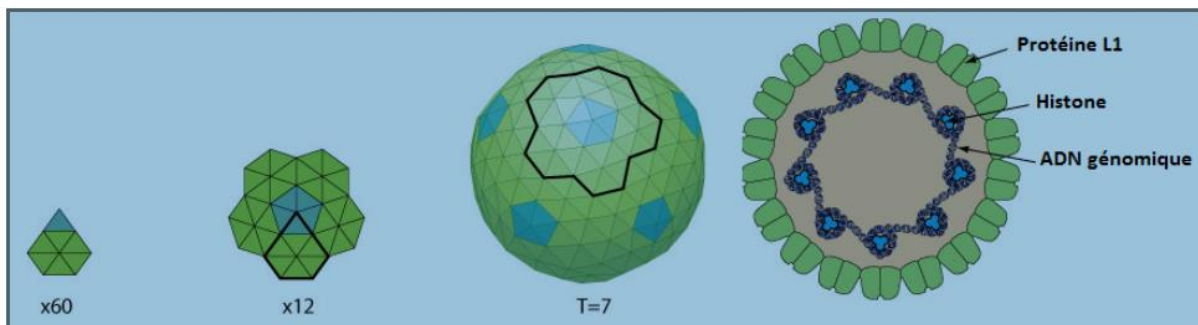


Figure2 : Structure de la capsid des papillomavirus. [101]

#### 1.1. La protéine L1 :

C'est la protéine majeure de la capsid. Elle porte les antigènes spécifiques de genre et certains gènes spécifiques d'espèces. [70] les protéines L1 ont la propriété de s'auto-assembler en l'absence d'autres protéines virales pour former des particules virales vides ressemblant à des capsides et appelées VLP (Virus Like Particules) comme elles possèdent les mêmes épitopes conformationnels que la protéine native et qu'elles sont très immunogènes, elles sont utilisées pour la production de vaccins et le développement de test sérologique ELISA . [80]

La protéine L1 possède une portion C-terminal qui comporte deux signaux de localisation nucléaire. Ils permettent son transfert dans le noyau et une portion N-terminal qui est une séquence indispensable à la formation des VLP. [51]

## 1.2. La protéine L2 :

C'est la protéine mineure de la capsid, elle contient des antigènes spécifiques de type , elle possède une portion C-terminale qui contient une séquence signal de localisation nucléaire et une portion N-terminale qui lie l'ADN viral .Cette protéine joue un rôle essentiel dans l'encapsidation de l'ADN. [6]

## 2. Le génome :

Le génome viral est une molécule d'ADN bicaténaire d'environ 8000 paires de bases dont un seul brin est codant. [19] Il s'associe avec les histones cellulaires pour former des nucléosomes. [49] Le génome viral est normalement retrouvé sous la forme épisomale ou circulaire. Chez certains types de PVs, l'ADN peut subir une linéarisation lors de l'intégration dans le génome de l'hôte, ce qui engendrerait certaines anomalies au sein de la cellule infectée. [55]

L'analyse des séquences nucléotidiques des HPV chez différentes espèces a révélé une organisation génétique commune, une dizaine de phases ouvertes de lecture (POL ou ORF) sont groupées en 3 régions : [32]

**2.1. Une région E (Early ou précoce)** traduite précocement, elle est subdivisée en 6 régions (E1 à E7) qui codent des protéines non structurales impliquées dans la réplication, la transcription et la formation cellulaire. [52] Ces protéines jouent des rôles différents au cours de l'infection, que ce soit au niveau du cycle de réplication du virus ou de la pathogenèse :

**Le cadre de lecture E1 (ORF E1) :** code pour une protéine dont le rôle est essentiel dans la réplication virale, particulièrement pour la réplication des épisomes. Il est par conséquent le plus large et le mieux conservé. [83] La protéine produite, qui est une hélicase ADN-dépendante avec une fonction ATPase, initie la réplication virale en déroulant l'ADN viral suite à son assemblage en un complexe hexamérique. L'affinité de ce complexe pour l'origine de réplication est accrue quand il s'associe avec la protéine E2. [30] [31]

**Le cadre de lecture E2 (ORF E2):** code pour une protéine qui intervient dans la réplication et la régulation de la transcription, elle présente une structure particulière en trois domaines distincts :

- Domaine carboxyterminal : de dimérisation et de liaison à l'ADN au niveau des sites E2BS, ce domaine est impliqué dans la réplication virale .
- Domaine aminoterminal : de la régulation de la transcription, la protéine E2 pouvant stimuler ou réprimer la transcription des gènes viraux suivant la position de certaines séquences d'ADN.
- Domaine charnière : entre les 2 domaines fonctionnels variables en séquences et en taille selon le type de papillomavirus. **[51]**

**Le cadre de lecture du gène E4,** situé dans la région précoce, chevauche celui du gène E2. Puisque son expression est sous le contrôle du promoteur tardif, E4 est en prédominance exprimé durant la phase tardive de l'infection. **[48]**

La protéine E4 est impliquée dans la maturation des particules virales en facilitant l'encapsidation du génome et en favorisant la diffusion et la libération des virions par destruction du réseau des filaments de cytokératine. **[20]**

**Le cadre de lecture du gène E5** code pour une protéine de transformation pouvant stimuler la prolifération cellulaire. C'est un oncogène chez le papillomavirus bovin 1. La protéine E5 de l'HPV 16 est capable de stimuler l'activité du récepteur du facteur de croissance épidermique EGF et de réduire l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I. **[44]**

Les fonctions des protéines codées par les ORFs E6 et E7 sont les mieux caractérisées des HPV. Les effets des protéines E6 et E7 sur les cellules infectées varient grandement entre les HPV-HR (à haut risque oncogène) et les HPV-LR (à bas risque oncogène). Leur activité dépend du degré d'affinité avec leur cible respective; les protéines E6 et E7 des HPV-HR ayant une plus grande affinité que celles des HPV-LR pour leurs cibles cellulaires. L'expression de ces ORFs est régulée par la protéine E2. **[58]**

**2.2. Une région L (Late ou tardive)** codant pour des protéines structurales, dont les protéines de capsid L1 et L2, exprimées tardivement dans les couches superficielles de l'épithélium. [50]

**2.3. Une région non codante ou LCR (Long Control Region)** comprenant 400 a 1000 nucléotides et située entre les ORF L1 et E6 E7 est très variable elle contient un site ori ( site d'origine de la réplication virale) , les promoteurs des gènes précoces et des séquences de régulation de la réplication et de la transcription.

Ces trois régions sont séparées par deux sites de polyadénylation : un site précoce et un site tardif. [6]

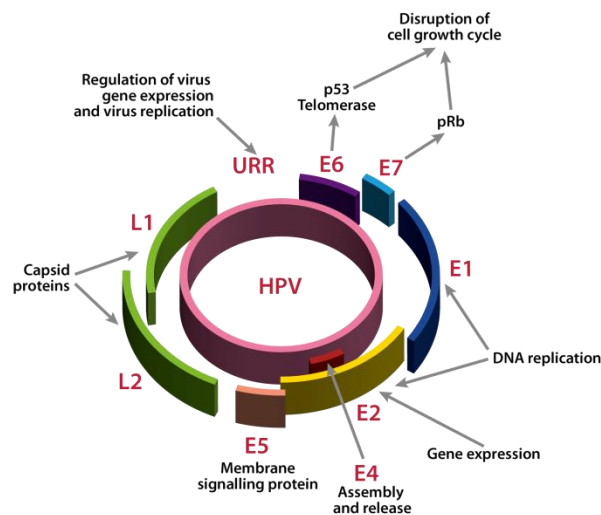


Figure 3 : Représentation du génome de l'hpv16. [95]

### 3. Cycle viral :

#### 3.1. Attachement et endocytose :

Lors d'une infection à papillomavirus, et suite à une lésion tissulaire ou un microtraumatisme les HPVs se fixent sur les récepteurs de la cellule hôte et pénètrent dans les couches basales de l'épithélium, ces cellules sont capables d'auto renouvellement ce qui est nécessaire au maintien d'une infection virale chronique. [54]

Les intégrines de type  $\alpha 6$  et l'héparane sulfate sont les récepteurs impliqués dans la fixation du virus aux cellules cibles qui sont les kératinocytes. Les particules de papillomavirus sont internalisées lentement par un mécanisme dépendant de l'endocytose, médié par la voie des clathrines pour HPV16 ou 58 ou par la voie des cavéoles pour HPV31. La taille des capsides de papillomavirus ne leur permet pas de diffuser passivement dans le Cytosol ce qui nécessite un mécanisme actif impliquant le cytosquelette pour rejoindre le noyau, le transfert de l'ADN viral au noyau est facilité par la protéine L1 et la protéine L2. Mais, le diamètre de la capside des papillomavirus est de 55 nm alors que le diamètre fonctionnel du pore nucléaire est de 29 nm. Cette incapacité physique suggère que le désassemblage de la capside en capsomères est nécessaire avant l'entrée du génome viral dans le noyau. [75]

### **3.2. Réplication de l'ADN viral :**

La réplication de l'ADN viral s'effectue en 3 phases :

#### **a. Première phase : Phase d'établissement**

Elle se déroule dans les cellules souches basales de l'épithélium et les protéines précoces E1 et E2 agissent en synergie pour activer la réplication. [24] Ceci a lieu lors de la phase S du cycle cellulaire au cours de laquelle l'ensemble de protéines cellulaires de duplication de l'ADN est présent. La protéine E2 par un mécanisme d'encombrement stérique limite l'expression des protéines E6 et E7 permettant toutefois une perturbation du cycle cellulaire. Ceci permet d'obtenir de 50 à 100 copies d'ADN viral par cellule. Cette phase de réplication est dite non productive, car il n'y a pas de production de virions. [61]

#### **b. Deuxième phase : Phase de maintenance**

Elle correspond au maintien d'un nombre constant de génomes d'HPV au fur et à mesure des divisions cellulaires. Elle est observée dans les couches basales et suprabasales de l'épithélium. Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire dans chaque cellule fille. La protéine E2 joue un rôle essentiel dans la ségrégation des génomes viraux au cours de la division cellulaire. [43]

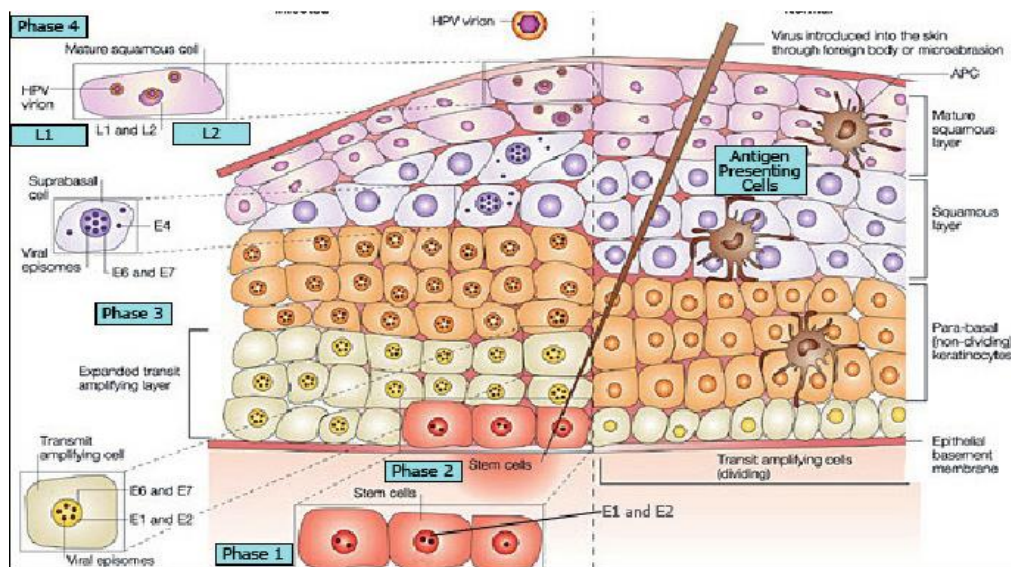
### c. Troisième phase : Phase d'amplification

Elle est associée à la production de nouveaux virus par un mécanisme de réplication de type « cercle roulant » ; le nombre de génomes viraux est largement augmenté dans chaque cellule. De façon concomitante, les gènes tardifs sont transcrits en ARN codant pour les protéines de capsidie par des facteurs cellulaires impliqués dans la différenciation épithéliale.

Une fois le génome viral répliqué dans le noyau, les protéines virales L1 et L2 nouvellement synthétisées dans le cytoplasme rejoignent le noyau où de nouveaux virions infectieux sont formés par encapsidation du génome. [43]

### 3.3. Assemblage et libération :

La dernière phase du cycle viral va consister en l'assemblage de particules virales et à leur libération à la surface de l'épithélium ; Les HPV n'étant pas des virus lytiques, la sortie des particules virales se fait via la zone de desquamation, lorsque la couche cornée superficielle de l'épiderme est éliminée. La muqueuse est alors très infectante et le risque de transmission des HPV est très important. Cette étape est dite productive puisqu'il y a formation des virions ; elle se traduit par un effet cytopathogène pathognomonique de l'infection à HPV caractérisé par des koilocytes. [54]



**Figure 4 :** L'architecture des cellules épithéliales squameuses stratifiées cervicales et l'expression de protéines de papillomavirus humain après infection. [33]



## CHAPITRE 3 : GENOTYPES ONCOGENES

Les HPV sont des virus extrêmement répandus qui infectent la peau et les muqueuses, plus précisément les épithéliums malpighiens. Chez l'homme, plus de 200 génotypes de papillomavirus ont été décrits, dont une quarantaine infecte préférentiellement les muqueuses anogénitales.

Parmi les HPV à tropisme génital, on distingue :

- Les HPV à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) qui ont un pouvoir oncogène démontré et qui sont donc retrouvés dans les lésions cancéreuses, ils sont responsables des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin, mais aussi d'autres localisations anogénitales (vagin, vulve, pénis)

- Les HPV à bas risque (6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89) associés à des lésions sans potentiel d'évolution vers des lésions de haut grade et le cancer invasif.

Il est capital de bien distinguer ces deux groupes d'HPV, qui ont des différences en terme de pathogénicité. [5]

### 1. Distribution des génotypes oncogènes :

#### 1.1 .Distribution des HPV dans le cancer invasif du col :

La distribution des génotypes des virus en fonction des lésions retrouvées peut donner une indication sur le pouvoir oncogène de certains d'entre eux. D'après une méta-analyse portant sur près de 14 500 cas, les cancers du col dans le monde seraient associés dans 54 % des cas à HPV 16 et dans 15 % des cas à HPV 18.

Par ordre de fréquence on retrouve ensuite les HPV 33, 45 et 31 à des taux nettement plus faibles. Si les génotypes 16 et 18 représentent les deux principaux génotypes quels que soient les continents, il existe cependant des différences concernant la répartition des autres génotypes. Notons par exemple que l'HPV 58 est associé à presque 6 % des cancers (en 3e position par ordre de fréquence) en Asie alors qu'il est associé à moins de 2 % des cancers du col sur les autres continents . De même, l'HPV 52 est associé à 4 % des cancers en Asie, 2,2 % en Amérique et moins de 1 % en Europe. [25]

## **1.2 .Distribution des HPV dans les lésions de haut grade :**

La très grande majorité des lésions de haut grade serait associée à au moins un HPV.

Dans une méta-analyse de 2007 portant sur 7 094 lésions de haut grade soit frottis HSIL (Lésions intra-épithéliales de haut grade), soit lésions de CIN2+ (Néoplasies Intra épithéliales Cervicales de grade 2) réparties dans le monde on retrouve une prédominance de l'HPV 16 (45 %) moindre que dans les cancers invasifs, suivi des génotypes 31,33, 58, 18 chacun retrouvé dans environ 9 % des lésions. [34]

Ainsi, ces données pourraient suggérer que le risque d'aggravation des lésions HSIL est variable selon le génotype qui leur est associé, faisant des HPV 16, 18 et 45 des génotypes à fort potentiel carcinologique. Ces constatations sont appuyées par les études Edith 1 et 2 qui ont estimé la distribution des HPV dans la population française pour les cancers invasifs et pour les lésions de haut grade histologiquement prouvées. Les auteurs retrouvent également une nette surreprésentation des génotypes 16 et 18 dans les cancers invasifs comparés aux CIN2+. [25]

## **1.3. Distribution des HPV dans les lésions de bas grade :**

La distribution au niveau mondial des HPV dans les lésions de bas grade semble différente. Les 6 génotypes les plus fréquemment retrouvés sont l'HPV 16 (20 %), 31 (8 %) ,51 (8 %), 53 (8 %), 56 (7 %), 52 (7 %) et l'HPV 66 ne représenterait que 6 % des lésions de bas grade .

On notera par ailleurs que dans toutes les séries, les co-infections sont d'autant plus fréquentes que les lésions sont peu sévères. Au stade de CIN3+ (Néoplasies Intraépithéliales cervicales de grade 3) , les co-infections deviennent rares. [25]

## **2. Facteurs de risque des infections à HPV :**

### **2.1. Facteurs liés au virus :**

#### **2.1.1. Génotype viral :**

Il est démontré que les femmes qui ont acquis des papillomavirus à haut risque (16 ou 18) ont un risque accru de développement de néoplasies cervicales comparé à celles qui ont été en contact avec d'autres types viraux.

C'est le type HPV16 qui est le plus souvent associé au cancer du col, il est retrouvé dans 50% des tissus tumoraux, le risque des CIN en cas d'infection à HPV 16 est aussi augmenté par rapport aux autres types oncogènes. Cependant les tumeurs causées par HPV18, qui n'est responsable que de 20% des cas sont plus agressives que celles causées par HPV16. [50]

### **2.1.2. Charge virale :**

Une charge virale élevée est associée à une diminution de la probabilité de clairance de l'infection à HPV et est un indicateur de CIN sous-jacente ; de façon générale , la détection des lésions augmente lorsque la charge virale est élevée ; et donc des charges virales faibles pour les dysplasies légères et plus importantes en cas de dysplasies modérées ou sévères. Inversement, on peut retrouver des charges virales faibles en cas de lésion cancéreuse ceci pourrait être expliqué par la présence d'intégration du génome des HPV dans les lésions à haut grade.

L'utilisation de la charge virale comme marqueur de progression n'est pas encore reconnue fermement. [26]

### **2.1.3. Persistance virale :**

Le risque de développer une lésion de haut grade est corrélé à la persistance de l'infection à HPV à risque, de plus cette persistance doit probablement être spécifique d'un type précis d'HPV pour permettre l'évolution lésionnelle. La persistance est prédominante pour HPV 16 et 18 comparée aux autres types viraux à risque. [26]

## **2.2. Facteurs liés à l'hôte :**

### **2.2.1. Age :**

Le taux de détection de l'ADN des HPV est fortement lié à l'âge ; ce dernier est observé entre 20 et 24 ans, tandis qu'après 35 ans les taux sont de moins de 10 %. Cela confirme que la majorité des infections HPV sont transitoires avant 35 ans et la proportion des femmes concernées par cette infection après 35 ans sont celles qui ont une infection persistante par les HPV à risque et pour lesquelles une lésion cervicale actuelle ou future à une forte probabilité d'être détectée. [43]

### **2.2.2. Comportement sexuel :**

L'infection génitale à HPV étant une maladie sexuellement transmissible, le comportement sexuel est le principal facteur de risque. Le nombre de partenaires, le nombre de rapports du sujet, l'âge précoce lors du premier rapport sexuel, ainsi que la présence des antécédents de lésions génitales ou de MST (Maladies sexuellement transmissibles) sont des facteurs déterminants de l'infection à HPV oncogènes et les lésions qui lui sont associées. [26]

### **2.2.3. Type HLA :**

Le système HLA (Human Leukocyte Antigen) occupe une place de plus en plus importante dans la recherche sur les HPV, les molécules du HLA présentent un important polymorphisme génétique, et la qualité de la présentation d'un antigène viral va dépendre de l'haplotype du HLA qui le prend en charge. à ce jour, des travaux ont démontré que certains allèles des gènes de l' HLA ont été associés à un risque plus élevé de dysplasies ou de cancers du col utérin par exemple expression de l'allèle HLA-DQB1\*0301 seul ou combiné à l'allèle HLA-DRB1\*0401, ceci étant dû à une présentation moins efficace des peptides antigéniques aux lymphocytes T et donc à une réponse immunitaire moindre. [6] [8]

### **2.2.4. Statut immunitaire :**

La perturbation des défenses immunitaires locales et générales est considérée comme l'un des cofacteurs endogènes majeurs impliqués dans la carcinogenèse cervicale.

En effet, la prévalence des infections génitales à HPV oncogènes et des lésions cervicales qui leur sont associées est très augmentée chez les sujets transplantés rénaux et/ou dialyses par rapport aux sujets immunocompétents.

Chez des femmes infectées par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), la prévalence des infections à HPV est également accrue, et ce par défaut de clairance virale qui favorise la persistance de l'infection. [14]

## **2.3. Facteurs environnementaux :**

Un certain nombre de facteurs environnementaux sont susceptibles d'influer sur l'évolution de l'histoire naturelle des infections à HPV et en particulier sur la progression des lésions cervicales.

Parmi ces facteurs on peut citer :

**2.3.1. Le tabagisme** : quelques études récentes montrent que le tabac augmente le risque de développer une CIN 2/3 avec un effet-dose dépendant du nombre de cigarettes.

**2.3.2. Les facteurs hormonaux** : comme la prise de contraceptifs oraux : L'utilisation au long cours (> 5 ans) des oestroprogestatifs par des femmes présentant une infection à HPV persistante constitue un facteur favorisant l'apparition d'un cancer du col.

**2.3.3. Les facteurs nutritionnels** : un déficit en vitamine A favoriserait le développement des lésions intra épithéliales. [50]

### 3. Intégration du génome et oncogénèse :

#### 3.1. Définition de l'Oncogénèse :

Le processus de l'oncogénèse chez les humains est un processus en plusieurs étapes, ces étapes sont le reflet de modifications génétiques qui conduisent à la transformation progressive de cellules humaines normales en cellules tumorales. La cellule cancéreuse présente de nombreuses anomalies chromosomiques : mutations ponctuelles, translocation d'un morceau de chromosome sur un autre, délétion, duplication et/ ou amplification d'une région de chromosome.

Les six caractéristiques des cellules cancéreuses sont : leur capacité à produire leurs propres signaux de croissance, leur non-réponse aux signaux d'inhibition de croissance, l'absence de mort cellulaire, la maintenance de l'angiogénèse, l'invasion des tissus par les membranes basales et les capillaires. De plus, le septième cofacteur pourrait être les déficiences dans la réponse immunitaire.

Le mécanisme d'oncogénèse des HPV est lié à une perturbation de la prolifération cellulaire. Il s'agit de l'intégration du génome de l'HPV dans celui de la cellule hôte. C'est un événement qui n'apparaît que tardivement lors d'une infection persistante par un HPV à haut risque oncogène. [65]

### 3.2. L'intégration du génome :

L'intégration du génome de l'HPV serait un événement clé permettant de distinguer HPV de haut risque et HPV de bas risque.

Le génome des HPV de haut risque a une plus grande propension à s'intégrer dans le génome des cellules hôtes, alors que celui des HPV de bas risque est le plus souvent maintenu sous une forme épisomale extra-chromosomique.

À l'intérieur même du groupe des HPV de haut risque, ceux qui sont responsables de lésions de bas grade ont leur génome présent sous forme épisomale, alors que le génome de ceux qui sont responsables de lésions de haut grade ou de cancer est le plus souvent intégré au génome de la cellule hôte.

Cette intégration se produit en amont des gènes précoces E6 et E7, le plus souvent au niveau d'E2, avec comme conséquence l'inactivation du gène et l'hyper-expression d'E6 et E7 due à la perte du rétrocontrôle négatif exercé par le facteur de transcription E2.

En interrompant les ORF ; E1 ou E2 qui ont une propriété répressive sur les ORF E6-E7 des HPV à risque, l'intégration virale au génome contribue à augmenter l'expression des gènes E6-E7 de même que leur capacité d'immortalisation in vitro, ainsi le blocage de l'activité répressive des gènes E1 ou E2 sur les gènes transformants E6-E7 contribue à fixer spécifiquement les protéines suppressives de tumeurs p53 (Protéine 53) ou pRb (Protéine du rétinoblastome) et constitue le deuxième événement à l'origine de l'évolution probable du processus de transformation.

Cette intégration est un événement « terminal » dans le cycle de ces virus, car une fois leur génome intégré, la multiplication virale ne peut plus avoir lieu.

Seul le groupe des HPV à risque élevé (16-18) est impliqué dans l'oncogenèse, alors que le groupe des HPV à bas risque (6-11) ne l'est qu'exceptionnellement.

Les études de biologie virale ont permis de comprendre les circonstances et les différences fondamentales sur le risque transformant des gènes E6-E7 des HPV à risque élevé qui les différencient des ORF E6-E7 des HPV à bas risque.

Les oncoprotéines des ORF E6-E7 des HPV 16 et 18 se fixent spécifiquement à des protéines suppresseurs du cancer (pRB et p53) mais l'affinité de liaison varie selon le type des HPV. Les protéines E7 des HPV 6 et 11 ont une affinité respectivement 20 et 5 fois plus faible que celle des protéines E7 des HPV 16 et 18. [37] [45] [40]

## 4. Implication des protéines virales dans l'oncogenèse :

Les progrès en biologie moléculaire ont permis de présenter les mécanismes par lesquels ces virus contribuent au développement du cancer. Seules les oncoprotéines E6-E7 des papillomavirus à haut risque (HPV 16-18) se lient spécifiquement et avec une forte affinité aux protéines p53 et pRb. Cet événement est le point de départ de l'intégration de l'ADN viral dans le génome des cellules hôtes. Ces modifications biologiques apparaissent comme des étapes très importantes dans la pathogénie des dysplasies et des cancers du col utérin, ainsi que dans la progression tumorale.

### Le gène de susceptibilité au rétinoblastome (RB)

Le gène de susceptibilité au rétinoblastome fait partie d'une famille de gènes connus comme des gènes suppresseurs de tumeur qui ont pour propriété de régler le cycle cellulaire.

La phosphorylation de la protéine pRb est contrôlée par au moins une kinase appartenant à un groupe d'enzymes qui ont des effets pléiotropiques sur le cycle cellulaire.

Il a été démontré que pRb pouvait se fixer à un facteur transcriptionnel cellulaire, E2F.

L'interaction entre pRb et E2F est probablement le mécanisme par lequel pRb et d'autres facteurs cellulaires (notamment la protéine p107) pourraient moduler le cycle cellulaire. [37] [71]

### Le gène p53 :

La protéine p53 est une phosphoprotéine codée par un gène suppresseur de tumeurs. Elle a été la première protéine cellulaire se liant aux protéines des virus à ADN à être identifiée.

Le gène humain *P53* est localisé dans le bras court du chromosome 17, elle a été initialement classée comme un antigène tumoral après l'observation de ses concentrations anormalement élevées dans une variété de tumeurs et de lignées cellulaires tumorales.

Elle est impliquée dans le contrôle de la croissance de certaines cellules «agressées» Et dans la réponse aux lésions de l'ADN et retarde la progression du cycle des cellules dont l'ADN est altéré afin de permettre sa réparation. Si les lésions sont irréversibles, p53 peut initier la voie apoptotique conduisant à la mort cellulaire. [37]

### 4.1. L'oncoprotéine E7 :

#### 4.1.1. Définition :

L'oncoprotéine E7 des HPV à haut risque code un polypeptide d'environ 100 acides aminés totalisant un poids moléculaire de 13kDa.

La protéine E7 est localisée essentiellement dans le noyau mais aussi dans le cytoplasme dépendamment de la phase du cycle cellulaire dans lequel se trouve la cellule infectée.

Cette protéine est séparée en trois régions conservées nommées CR1 CR2 et CR3 ; la région CR1 se trouve en N-terminal de la protéine et est nécessaire à la dégradation de la protéine du retinoblasme pRb ; un suppresseur de tumeur.

La région CR2 contient un motif LxCxE qui permet la liaison avec les membres de la famille pRb soit pRb p105, p107 et p130 , et un site de phosphorylation par la caséine kinase II qui agit au cours des phases G1 et S du cycle cellulaire en promouvant la croissance.

La région CR3 possède un domaine à doigts de zinc composé de deux motifs Cys-x-x-Cys requis pour l'association avec pRb ainsi qu'avec d'autres protéines cellulaires et est importante pour la dimérisation de protéine.

La protéine E7 a une demi-vie courte. Elle est dégradée via le protéasome par une voie peu commune dans laquelle les molécules d'ubiquitine sont fixées du coté N-terminal. [86]

#### **4.1.2. Rôles de l'oncoprotéine E7 :**

##### **Interaction entre E7 et pRb :**

E7 est capable de moduler le cycle cellulaire en se fixant à pRb, empêchant ainsi la liaison normale de pRb avec E2F. De ces observations il apparaît que l'oncoprotéine E7 contribue à la transformation cellulaire par la liaison compétitive à des protéines cellulaires clés en se fixant à pRb et à p107 et en empêchant de former des complexes avec E2F. E2F est libéré de ses répresseurs cellulaires et contribue ainsi à son rôle activateur de l'expression des gènes, en particulier ceux impliqués dans les stades du cycle cellulaire.

D'un point de vue viral, cette libération du contrôle négatif conduit le cycle cellulaire à la phase S, autorisant ainsi la réplication virale. Cela contribue à dérégler la multiplication cellulaire et à permettre le développement de la tumeur. Toutefois, la forme E2F libérée de son complexe avec pRb n'est pas constamment requise pour le maintien du phénotype malin des cellules cancéreuses positives pour le papillomavirus. [37]



## **Autres activités :**

### **E7 et la reprogrammation épigénétique :**

En plus de son action sur les protéines de la famille pRb, E7 agit également sur la transcription des gènes sous le contrôle du facteur E2F. E7 interagit avec les HDACs (histones deacétylases de classe I), qui sont des co-répresseurs transcriptionnels induisant le remodelage de la chromatine en modifiant les résidus lysine sur les histones. L'association d'E7 et des HDACs augmenterait la transcription dans les cellules en différenciation et favoriserait la progression dans la phase S. [1]

### **E7 et instabilité génomique :**

L'instabilité génomique est notamment provoquée par l'augmentation de l'expression de Cdk2 (Cyclin-dependent kinase 2) par E7 ainsi que par la perturbation des différents points de contrôle des passages des phases G2/M et de la mitose, générée par les oncogènes E6 et E7. Cette perte de régulation va promouvoir l'aneuploïdie qui est caractérisée par un nombre anormal de chromosomes souvent observés dans les cellules exprimant E7. De plus, E7 va interagir avec la tubuline- $\gamma$  reconnue pour être un régulateur du centrosome, l'empêchant de se lier aux fuseaux mitotiques et provoquant ainsi la formation de nouveaux centrosomes. Les irrégularités du nombre de centrosomes sont observées lorsque la protéine E7 est produite ce qui est un évènement précurseur de l'instabilité génomique.

L'instabilité génomique occasionnée par l'oncogène E7 peut être aussi associée aux dommages à l'ADN, suggérant que E7 peut induire le clivage de l'ADN bicaténaire ou bien interféré avec les composants de réparation de l'ADN. [76]

### **E7 et le métabolisme cellulaire :**

Les cellules cancéreuses présentent un métabolisme énergétique basé sur les processus de glycolyse plutôt que la respiration mitochondriale. Ainsi, E7 interagit avec une enzyme, l'activateur  $\alpha$ -glucosidase, qui régule le catabolisme du glycogène en réduisant les stocks cellulaires et les rendant disponibles pour le métabolisme. Dans les cellules transformées, l'expression de cette enzyme a pour conséquence l'augmentation du pH, due à une activité accrue des protéines échangeuses d'ions  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . [2]

### **E7 et le système immunitaire :**

En s'associant avec IRF-1 (Interferon Regulatory Factor), E7 empêche son activité, telle que l'activation des promoteurs de l'IFN- $\alpha$ . E7 influence ainsi la réponse et la surveillance immunitaire.

Par son interaction avec p48, E7 va également bloquer la transduction des signaux de la voie de signalisation des interférons. Enfin, elle supprime la réponse immunitaire cytotoxique par la dérégulation du transporteur associé à TAP1 (Antigen Peptide Transporter 1), molécule clef de la voie de présentation des antigènes par le CMH-I. [2]

## **4.2. L'oncoprotéine E6 :**

### **4.2.1. Définition :**

les protéines E6 sont de petites protéines d'environ 150 acides aminés caractérisées par 4 motifs Cys-X-X-Cys capables de former deux domaines de zinc : ZD1 et ZD2 .

Sa masse moléculaire est d'environ 19 kDa. Il s'agit d'une protéine essentiellement nucléaire, et se trouve plus particulièrement en périphérie de la chromatine condensée.

La protéine E6 contient quatorze cystéines, dont huit lient le zinc. Elle se replie, par ces deux domaines, E6C et E6N, sur elle-même par formation de ponts disulfures intramoléculaires. [86]

### **4.2.2. Rôles de l'oncoprotéine E6 :**

#### **Inactivation de P53 :**

Le rôle principal de E6 correspond à sa fonction transformante , qui repose sur son interaction avec l'anti-oncogène p53. [86]

L'inactivation de la p53 se fait par 2 mécanismes :

Le premier, c'est la dégradation de p53 par le système du protéasome. l'oncoprotéine E6 se lie par l'intermédiaire de l'ubiquitine ligase E6-AP (*E6-Associated Protein*), à la protéine suppresseur de tumeur p53, formant ainsi un complexe trimérique. Une fois liée à E6 et E6-AP, la protéine p53 subit alors une dégradation protéolytique ubiquitine dépendante via un protéasome.

Le second mécanisme par lequel E6 inhibe la voie de signalisation dépendante de p53 est sa séquestration au sein du cytoplasme. Celle-ci résulterait d'un masquage des signaux de localisation nucléaire au niveau C-terminal de p53 ou a l'activation de son export.

E6 peut également induire des modifications post-traductionnelles de la p53 qui aboutissent à des changements conformationnels de p53 ayant comme conséquence l'inhibition de sa liaison à l'ADN ou à une dissociation des complexes ADN-P53 déjà formés. [2]

## **Autres activités :**

### **Effet sur l'apoptose :**

Une des premières conséquences de la dégradation de p53 par E6 est l'inhibition de l'apoptose qui permettrait d'éliminer les cellules infectées. Cependant, un mécanisme d'apoptose indépendant de p53 peut également être employé afin d'éliminer les cellules anormales.

Deux mécanismes d'apoptose peuvent être utilisés par la cellule : un mécanisme intrinsèque passant par la mitochondrie et un mécanisme extrinsèque, de manière intéressante, E6 perturbe les deux mécanismes afin de créer un environnement cytoprotecteur et de prévenir la mort des cellules.

La voie intrinsèque implique un signal cellulaire tel qu'un dommage à l'ADN ou un stress oxydatif, ces stress de manière générale activent un certain nombre de voies de signalisation qui convergent vers la mitochondrie. Une balance entre les signaux pro et anti apoptotiques est alors réalisée. En cas de stress, les protéines pro-apoptotiques sont activées ce qui induit la formation de pores au sein de la membrane mitochondriale et conduit à la libération de cytochrome C dans le cytoplasme et à la formation de l'apoptosome. Les oncoprotéines E6 de bas et haut risque sont capables d'inhiber cette voie d'apoptose en interagissant avec les protéines pro-apoptotiques et ainsi inhiber la mort cellulaire programmée.

La voie extrinsèque est induite par des signaux extérieurs qui vont conduire à l'activation des récepteurs de mort au niveau de la surface cellulaire, ces récepteurs sont les membres de la famille du récepteur TNF (Tumor Necrosis Factor), les récepteurs sous forme de trimère, recrutent des molécules adaptatrices, l'ensemble forme alors le complexe DISC (Death Inducing Signaling Complex), E6 a été montré comme inhibant de cette apoptose extrinsèque à des stades précoces en interagissant avec les molécules adaptatrices, ce qui inhibe la formation du complexe menant à la mort cellulaire. [2] [17]

### **Activation des télomérases :**

L'expression des E6 de haut risque permet l'immortalisation des cellules épithéliales et l'une des cibles cellulaires impliquées dans ce phénomène est la télomérase.

La télomérase est responsable du maintien des télomères à l'extrémité des chromosomes. Elle est active au sein des cellules saines uniquement au cours du développement embryonnaire alors qu'elle est activée dans 90 % des cellules cancéreuses.

L'activité de la télomérase va être dépendante de la sous-unité catalytique hTERT (*human télomérase reverse transcriptase*).

En absence d'activation, une érosion progressive des télomères est observée ce qui conduit à la mort des cellules par sénescence. Ainsi, le raccourcissement des télomères assure la régulation du cycle de vie des cellules saines.

L'oncogène E6 des HPV à haut risque maintient la viabilité cellulaire en activant la sous-unité catalytique de la télomérase hTERT, générant une élongation des télomères dans les cellules infectées, L'expression continue de l'hTERT au sein des cellules cancéreuses va conduire à une prolifération continue encore appelée immortalisation répliquative, qui est une étape clé du développement tumoral. [17]

#### **Effet sur la différenciation et la structure épithéliale :**

Une autre caractéristique de la protéine E6 des HPV-HR est sa capacité à inhiber la différenciation des cellules épithéliales qui conduit normalement à la kératinisation et à la mort des cellules. Ainsi, E6 est capable d'interférer avec la différenciation cellulaire chez les souris transgéniques K14-E6 et cause l'apparition de tumeurs histologiquement non différenciées de l'épithélium indépendamment de p53. E6 est également capable d'augmenter la résistance des keratinocytes au sérum et au calcium, agents capables d'induire une différenciation par une voie indépendante de p53. [17]

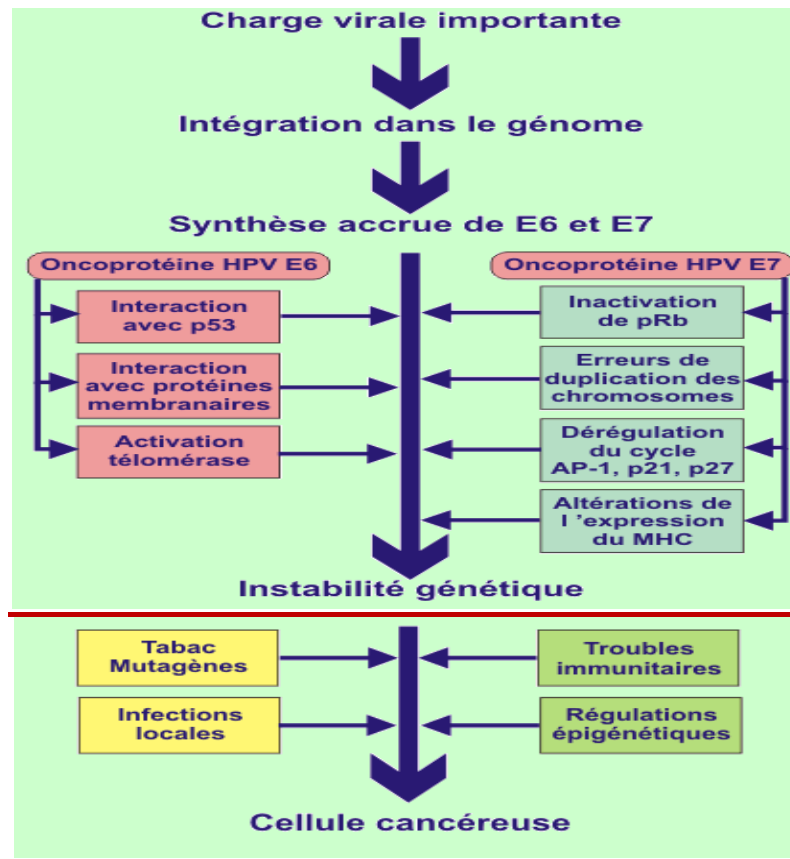


Figure 5: Rôles des oncoprotéines E6 et E7. [99]

## 5. Les lésions oncogènes dues au papillomavirus :

Les papillomavirus sont les agents étiologiques responsables du cancer du col de l'utérus. En effet, on retrouve dans plus de 99% des lésions du col utérin de l'ADN viral à HPV.

Les HPV sont aussi impliqués dans d'autres types de cancers ano-génitaux tels que les cancers du vagin, de la vulve et du pénis, ainsi que certains cancers de la sphère oropharyngée et carcinomes cutanés.

### 5.1. Lésions orales et laryngées :

L'infection récurrente de la muqueuse des voies aérodigestive supérieures par les papillomavirus humains à haut risque oncogénique est un facteur de risque de cancer. Les tumeurs induites par les papillomavirus humains atteignent préférentiellement l'oropharynx, ils sont histologiquement peu différenciés et envahissent d'avantage les ganglions, le génotype 16 est largement prépondérant, suivi par le génotype 18. [69]

## **5.2. Lésions cutanées :**

Ce sont des tumeurs cutanées malignes développées à partir des keratinocytes . Les facteurs de risques sont principalement le phototype clair et l'exposition aux rayonnements UV et l'âge avancé.

La mise en évidence de génome d'HPV dans les cancers cutanés épidermoïdes et basocellulaires souligne le pouvoir oncogène de ces virus en association avec les autres facteurs carcinogènes cutanés (UV, arsenic, inflammation chronique) et particulièrement chez les immunodéprimés (transplantés d'organes). **[100]**

## **5.3. Lésions des muqueuses génitales :**

Chez la femme, le papillomavirus peut être responsable de cancers de la vulve, du vagin, et surtout du col de l'utérus, en effet plus de 99 % des cancers du col sont provoqués par une infection à HPV.

L'infection persistante au papillomavirus se manifeste d'abord par des lésions précancéreuses appelées également néoplasies intra épithéliales qui en absence de traitement peuvent évoluer vers un cancer.

### **5.3.1. Lésions précancéreuses et cancéreuses du vagin :**

#### **5.3.1.1. Les néoplasies intra épithéliales vaginales :**

Selon la classification de Bethesda, les VAIN (Néoplasies Intraépithéliales Vaginales) sont classées en fonction de la hauteur de l'épithélium atteint et du degré d'envahissement de la membrane basale de l'épithélium vaginal.

On distingue les néoplasies :

- De bas grade, ou VAIN 1, ou dysplasies légères ;
- De haut grade, ou VAIN 2 ou 3, anciennes dysplasies moyennes ou sévères (ou carcinomes in situ).

Les lésions siègent le plus souvent au niveau du tiers supérieur du vagin. Cliniquement, la plupart des néoplasies intra épithéliales vaginales sont asymptomatiques, sans aucune lésion visible en l'absence de coloration. **[62]**

### **5.3.1.2. Cancer du vagin :**

Le cancer du vagin est un cancer rare qui ne représente que 2% des cancers gynécologiques. Il touche le plus souvent des patientes ménopausées. Ces tumeurs primitives du vagin résultent de la transformation de néoplasies intra épithéliales vaginales.

Le principal facteur de risque est une infection persistante à papillomavirus humain à l'origine des lésions de VAIN qui peuvent évoluer vers une forme invasive. [54]

### **5.3.2. Lésions précancéreuses et cancéreuses de la vulve :**

#### **5.3.2.1. Néoplasies intra épithéliales vulvaires :**

La VIN (Néoplasie Intraépithéliale Vulvaire) est le précurseur des carcinomes épidermoïdes qui représentent la forme histologique principale du cancer de la vulve.

Les néoplasies intra épithéliales vulvaires ont longtemps été subdivisées en VIN 1, 2 et 3 selon l'épaisseur des anomalies cellulaires dans l'épithélium, Après les nouvelles connaissances en virologie et l'expérience clinique une nouvelle classification a été établie par l'ISSVD (International Society for the Study of Vulvovaginal Disease) qui a permis de les classer selon 2 types principaux, aux contextes étiologiques et évolutifs différents : la VIN différenciée et la VIN classique (indifférenciée). [36]

#### **5.3.2.2. Carcinome épidermoïde vulvaire :**

Les cancers vulvaires sont des tumeurs rares, représentées dans 90 % des cas par un carcinome épidermoïde.

Approximativement 70 % des carcinomes épidermoïdes vulvaires surviennent sur les grandes et les petites lèvres, et de 15 à 20 % surviennent au clitoris.

Dans 5 % des cas, les lésions sont multifocales et dans 10 % les lésions sont trop étendues pour reconnaître la localisation initiale. [12]

### **5.3.3. Lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin :**

#### **5.3.3.1. Les néoplasies intraépithéliales intra cervicales :**

Les CIN (Néoplasies Intraépithéliales Intracervicales) se développent à partir de la jonction cylindromalpighienne et précèdent les carcinomes épidermoïdes , qui représentent environ 80 à 90% des lésions invasives du col de l'utérus. [85]

L'intensité et la topographie de ces anomalies permettent de classer les CIN selon leur sévérité en simples lésions infectieuses (CIN1) ou en lésions pré invasives (CIN2 et CIN3).

Les néoplasies intra épithéliales CIN se classent en trois grades, en fonction du degré d'atteinte dans l'épaisseur de l'épithélium malpighien.

Le grade I touche juste le tiers basal de l'épithélium, le grade II les deux tiers, et le grade III l'intégralité de l'épithélium. [38]

#### **5.3.3.2. Cancer du col de l'utérus :**

Le cancer invasif du col de l'utérus est une maladie d'origine infectieuse à évolution lente liée à l'infection par un *Papillomavirus humain*. Le cancer utérin, second cancer de la femme dans le monde, est responsable d'environ 250 000 décès par an au niveau mondial.

Sa carcinogénèse est obligatoirement induite par un HPV de type oncogénique ; Il existe de nombreux HPV à haut risque oncogène (16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 et 58) ; les HPV 16 et/ou 18 sont mis en évidence dans 75 % des cancers invasifs du col utérin dans les pays occidentaux. [63]

La clairance virale des HPV est assez rapide et fréquente, en moyenne 70 % des infections disparaissent en 12 mois et 90 % en 24 mois.

Une très faible proportion des femmes infectées par un HPV oncogène vont développer une lésion cervicale précancéreuse CIN qui évolue parfois vers un cancer in situ puis vers un cancer invasif. Donc il existe une filiation obligatoire entre les lésions préinvasives (lésions intraepitheliales intra cervicales) et le cancer invasif.

Les néoplasies cervicales préinvasives sont rarement associées à des symptômes. Avec l'évolution vers un cancer invasif, les femmes tendent à se plaindre de pertes vaginales anormales et de saignements entre les règles, en particulier après une douche vaginale ou un coït.

Le cancer du col ne se manifeste cliniquement que lorsqu'il est profondément invasif. [28]  
[10]



La prise en charge du cancer du col se résume en :

- Un traitement chirurgical non conservateur du col de l'utérus par colpohystérectomie élargie qui consiste en une hystérectomie totale le plus souvent par coelioscopie.
- Un traitement conservateur qui est la trachélectomie élargie (résection du col utérin).
- La chimiothérapie à base de sels de platine et elle est utilisée pendant la radiothérapie en six cycles.
- La radiothérapie externe qui est une irradiation pelvienne et/ou lomboaortique sur cinq semaines basée sur l'imagerie .La dose dépend de la stratégie thérapeutique et du volume tumoral.
- La curiethérapie pour le traitement du cancer du col qui est une technique de radiothérapie endoluminale qui consiste à placer une source radioactive (de l'iridium ou du césium) directement au contact de la tumeur. **[42] [84]**

## **CHAPITRE 4 : DEPISTAGE DES LESIONS ONCOGENES A *HPVs***

Le cancer du col est un cancer évitable. En effet, à la différence des autres sites de l'organisme, il est possible de détecter très précocement les lésions qui pourraient évoluer en cancer, Pris en charge et traité à un stade précoce d'anomalies à risque seulement, il est toujours possible d'éviter le développement d'un cancer. Nous disposons aujourd'hui de techniques de dépistage sophistiquées, en particulier le test HPV, qui permet de garantir aux patientes une protection quasi totale contre ce cancer [78].

### **1. Indication :**

Les femmes entre 25 et 65 ans (ou conformément aux directives nationales) doivent faire un test de dépistage pour détecter les modifications précoces du col. Ce test n'est pas nécessaire chez les femmes de moins de 25 ans qui développent très rarement un cancer du col, de même que chez les femmes qui n'ont jamais eu de relations sexuelles.

Quand les femmes ne peuvent bénéficier du dépistage qu'une seule fois dans leur vie, ce doit être de préférence entre 35 et 45 ans.

Pour les femmes de plus de 50 ans, un dépistage tous les 5 ans suffit.

Dans le groupe d'âges des 25 à 49 ans, on peut envisager un dépistage tous les trois ans(75). Une fréquence annuelle ne permet qu'un gain minime supplémentaire et présente un risque de sur-diagnostic et de sur-traitement. Il y a de rares évolutions très rapides d'un frottis négatif en carcinome invasif ; ces cas échappent à toute stratégie réaliste de dépistage.

Sur la base d'études cas-témoins et épidémiologiques, il semble peu opportun de débiter le dépistage durant la période de 3 ans qui suit le premier rapport sexuel. [104]

### **2. Intérêt du dépistage :**

Le dépistage permet de diminuer l'incidence du cancer invasif du col de l'utérus.

Des études cas-témoins montrent une forte corrélation statistique entre la pratique du dépistage par frottis et un risque réduit de cancer invasif du col utérin.

Un dépistage tous les 3 ans chez les femmes de 25 à 65 ans au moyen d'un frottis de col classique réduit de 90% l'incidence du cancer invasif du col.

Le dépistage permet de détecter des stades précancéreux, La longue latence entre l'apparition de l'anomalie cytologique et le cancer du col explique l'intérêt du dépistage qui met en évidence des lésions précancéreuses.

Le dépistage permet d'orienter vers un traitement rapide, moins invasif, préservant la fertilité. [104]

### **3. Méthodes de dépistage :**

#### **3.1. Le frottis cervico-utérin FCU :**

Les lésions préinvasives du col de l'utérus sont le plus souvent asymptomatiques et inapparentes à l'examen au spéculum réalisé à l'œil nu. Le dépistage repose sur un test cytologique, le frottis cervico-utérin, qui permet d'identifier l'existence de cellules anormales.

Deux techniques de frottis cervico-utérin de dépistage coexistent: le frottis avec cytologie conventionnelle sur lame et le frottis avec cytologie en milieu liquide.

Quelle que soit la technique utilisée, le frottis cervico-utérin de dépistage nécessite un prélèvement de cellules sur le col utérin au niveau de la jonction squamo-cylindrique, le cancer du col de l'utérus naissant entre exocol et endocol. [96]

#### **Conditions à respecter :**

- Etre réalisé en dehors de toute métrorragie ou inflammation, à distance d'un rapport sexuel, en l'absence de tout traitement local ;
- Renseigner le cytologiste : âge, date des dernières règles, statut ménopausique, type de contraception (hormonale, DIU, etc.), grossesse en cours, indication, antécédents de conisation ou autre traitement cervical, contexte clinique (atrophie, cervicite, prolapsus, etc.)
- Concerner impérativement la zone de jonction pavimentocylindrique.
- Eviter de faire le toucher vaginal avant le frottis cervico-utérin et d'utiliser un lubrifiant. [53]

### **3.1.1. Le frottis conventionnel :**

#### **3.1.1.1. Technique :**

##### **Prélèvement :**

Le prélèvement se fait avec une spatule d'Ayre qui permet de prélever à la fois au niveau de l'orifice cervical externe et au niveau de l'endocol. Le bout long de la spatule d'Ayre est introduit dans l'orifice cervical et une rotation à 360 degrés est effectuée, en appuyant suffisamment tout le long du mouvement afin de garder le contact avec le col. Le prélèvement doit être complété avec un écouvillon ou une brosse endocervicale lorsque la jonction n'est pas visible ou si l'orifice cervical est étroit. Celle-ci doit être introduite dans l'orifice cervical sur 1-2cm, la partie inférieure de la brosse restant visible. Le prélèvement est fait par un mouvement de rotation ou un mouvement de va-et-vient. [96]

##### **Étalement des cellules prélevées :**

L'étalement du matériel prélevé par la spatule d'Ayre sur la lame en verre doit être effectué d'un geste uniforme, sans revenir sur l'étalement déjà fait et sans effectuer de mouvements circulaires. En cas d'utilisation également d'un écouvillon ou d'une brosse endocervicale, il (elle) doit être déroulé(e) sur une seconde lame de verre. [96]

##### **Fixation :**

La fixation doit être réalisée immédiatement au moyen d'une bombe aérosol de fixateur maintenue à 25 cm de la lame, sauf si le laboratoire de destination préfère un séchage à l'air. [96]

#### **3.1.1.2. Limites du dépistage basé sur le frottis conventionnel :**

Le frottis conventionnel est incontestablement un outil efficace de dépistage. Cependant, sa sensibilité est inférieure à 70 %. En d'autres termes, un frottis normal ne signifie pas toujours un col normal. Les faux négatifs du frottis sont évalués entre 1,5 et 25 %.

Les anomalies du col sont parfois présentes, mais elles ne sont pas détectées sur la lame, ce qui rassure le médecin et la patiente, mais laisse néanmoins évoluer une lésion qui peut devenir invasive.

Tout dépistage comporte aussi des faux positifs. Ils représentent 2 à 8 % des frottis. Il s'agit de frottis anormaux dans lesquels des anomalies sont rapportées sur la lame, mais ne sont pas présentes sur le col. Ces faux positifs entraînent bien entendu un stress pour les patientes, génèrent des examens complémentaires inutiles et parfois des surtraitements.

Enfin, 2 à 3 % des frottis montrent des anomalies dites ambiguës pour lesquelles on ne peut pas se prononcer sur l'existence ou non de lésions. Ces résultats ambigus génèrent eux aussi un stress, des examens, des suivis, des traitements inutiles et un surcoût.

Il est clairement admis que les diagnostics basés sur l'interprétation de l'œil humain ont leurs limites et qu'une part de non-reproductibilité diagnostique peut être liée à cette interprétation. De fait, les résultats du frottis ne sont pas toujours le miroir exact de ce qui se passe sur le col. [7]

### **3.1.2. Le frottis en milieu liquide :**

#### **3.1.2.1. Technique :**

##### **Prélèvement :**

Le prélèvement est fait à l'aide d'une brosse/balai en plastique spécifique à la technique. La partie centrale des poils de la brosse est introduite dans le canal endocervical en appuyant de façon à permettre aux poils plus courts d'entrer en contact avec la région exocervicale du col de l'utérus. La brosse doit être appuyée sur le col tout en lui imprimant une rotation de 2,5 tours complets. En cas de col étroit, un deuxième prélèvement est effectué au niveau endocervical avec un écouvillon. [96]

##### **Transfert des cellules prélevées :**

La brosse est rincée dans le liquide de conservation prévu à cet effet en la pressant plusieurs fois sur les parois du flacon pour forcer les poils de la brosse à se séparer puis agitée dans le liquide pour libérer le matériel résiduel. Le flacon est ensuite fermé hermétiquement avec le bouchon à vis prévu à cet effet. [96]

##### **Étalement des cellules prélevées :**

L'anatomopathologiste effectue l'étalement sur lame après un procédé de centrifugation-filtration éliminant les débris cellulaires, les cellules inflammatoires et les hématies. Le laboratoire qui fait la lecture du frottis doit être équipé pour produire la lamelle correspondante (utilisation de méthodes semi-automatisées de préparation des lames). Le peu de données de bon niveau de preuve disponibles ne permet pas de recommander la lecture automatisée des lames. [96]

### **3.1.2.2. Les renseignements qui doivent accompagner le frottis cervico-utérin de dépistage :**

- Date des dernières règles
- Prise de contraception orale (oui/non)
- Dispositif intra-utérin (présence/absence)
- Grossesse en cours (terme)
- Accouchement récent (date de l'accouchement)
- Ménopause
- Traitement hormonal substitutif (oui/non)
- Antécédent de conisation (date, traitement laser)
- Antécédent d'hystérectomie subtotale (date, motif)
- La technique de frottis utilisée (conventionnelle et le nombre de lames, en milieu liquide et le liquide de conservation). [53]

### **3.1.2.3. Les facteurs qui influencent la qualité des frottis cervico-utérins de dépistage :**

- Le prélèvement qui dépend du geste technique et du dispositif utilisé.
- L'état du col utérin (fermé, difficilement accessible).
- La préparation des échantillons cytologiques qui dépend du geste technique et du dispositif.
- La différence d'interprétation entre les observateurs.

Quelle que soit la technique utilisée, la présence de cellules endocervicales est un des critères de qualité, mais leur absence (qui doit être signalée dans le compte rendu) ne constitue pas à elle seule un critère de non-interprétabilité. Le clinicien reste le seul juge de la nécessité ou non de répéter le frottis cervico-utérin de dépistage. [96]

### **3.1.3. Interprétation de frottis :**

#### **3.1.3.1. Un frottis normal ou négatif pour une lésion intraépithéliale :**

Un frottis normal est un frottis correctement prélevé, bien fixe, suffisamment cellulaire et dont le fond ne gêne pas l'interprétation (un fond hémorragique ou inflammatoire peut masquer les cellules épithéliales).

Par définition, il ne comporte pas de cellules atypiques, son aspect cytologique est en concordance avec le contexte clinique (âge de la consultante, contexte hormonal), il comporte des cellules de la jonction squamo-cylindrique, point de départ de la plupart des néoplasies malpighiennes. [23]

#### **3.1.3.2. Un frottis anormal ou positif :**

- **Frottis avec anomalies des cellules intraépithéliales malpighiennes ASC:**
  - ❖ Atypie malpighienne de signification indéterminée ASCUS
  - ❖ Lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade LSIL :
    - Dysplasie légère
    - CIN I
  - ❖ Lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade HSIL :
    - Dysplasie moyenne
    - Dysplasie sévère
    - CIN II
    - CIN III
    - Carcinome in situ
  - ❖ Carcinome Malpighien

- **Frottis avec anomalies des cellules intraépithéliales glandulaires AGC :**

Le système de Bethesda 2001 distingue parmi les anomalies des cellules glandulaires:

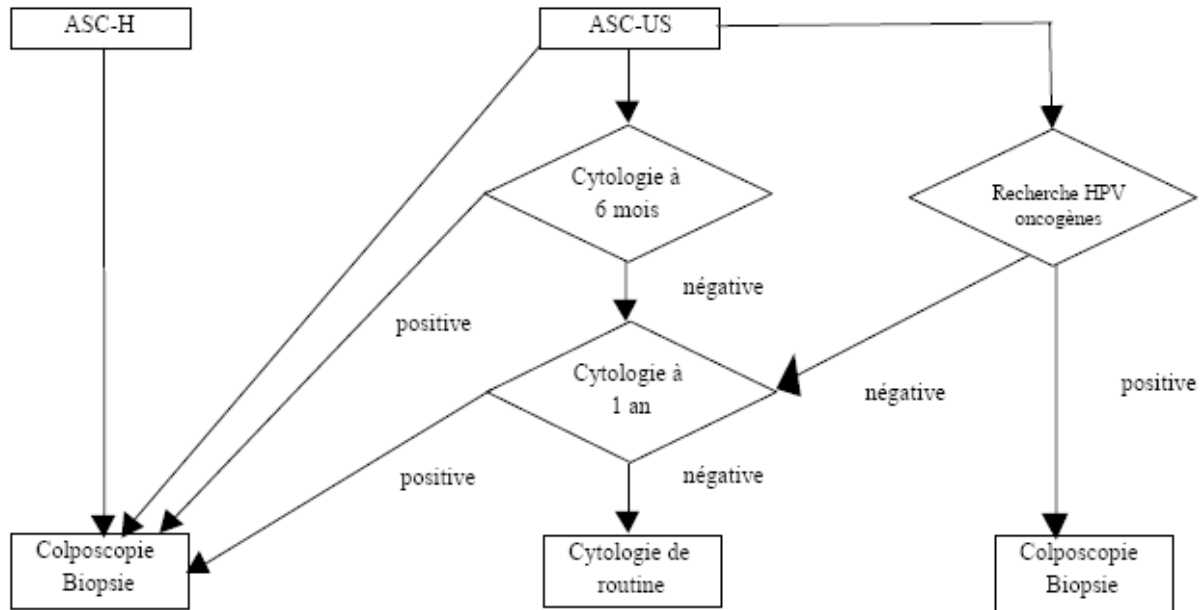
- ❖ les atypies des cellules glandulaires AGC-US .
- ❖ les atypies des cellules glandulaires ou endocervicales évoquant une néoplasie.
- ❖ l'adénocarcinome endocervical in situ AIS.
- ❖ les adénocarcinomes.
- ❖ les autres néoplasies malignes. [87]

### **3.1.4. Conduite à tenir devant une patiente présentant un frottis cervico-utérin anormal :**

#### **3.1.4.1. Conduite diagnostique en cas de frottis avec atypie des cellules malpighiennes :**

- ❖ En cas d'atypies des cellules malpighiennes ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade ASC-H :
  - une colposcopie est recommandée d'emblée
- ❖ En cas d'atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée ASC-US, 3 options sont possibles :
  - une colposcopie d'emblée ;
  - un frottis de contrôle 6 mois plus tard :
    - Si au cours de ce frottis de contrôle les anomalies cytologiques ont disparu, une surveillance régulière est justifiée, nécessitant 2 frottis normaux à des intervalles de 12 mois, en raison du risque d'apparition secondaire d'un cancer.
    - Si au cours de cette surveillance des anomalies cytologiques réapparaissent, une colposcopie est impérative, quels que soient leur sévérité et leur délai d'apparition.
      - une recherche des HPV potentiellement oncogènes. [3]





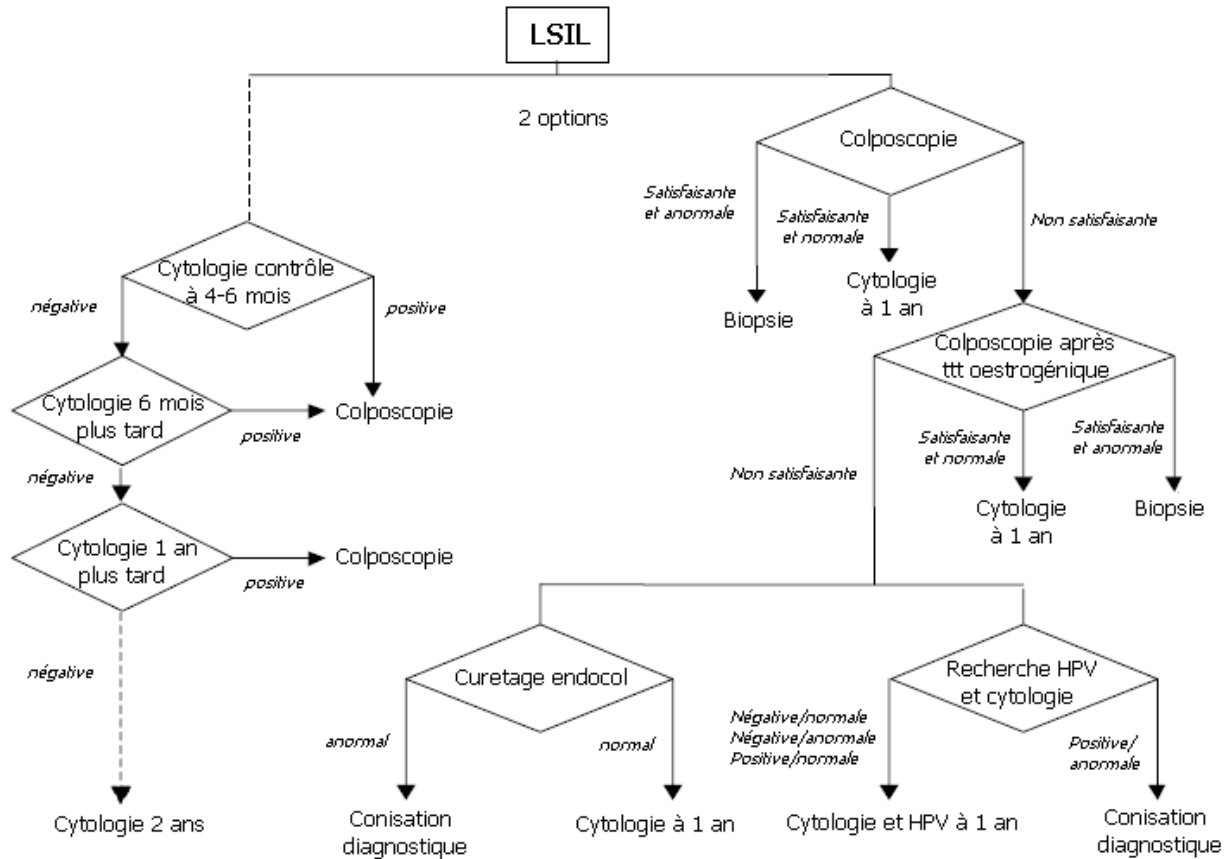
**Figure 6 : Prise en charge des atypies des cellules malpighiennes ASC. [3]**

- ❖ En cas de frottis avec lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade LSIL :

Les LSIL regroupent, selon le système de Bethesda 2001, les modifications cellulaires correspondant à l'effet cytopathogène induit par les HPV (koilocytose) et les dysplasies légères du col utérin (CIN 1).

Lorsque la zone de jonction n'a pas été vue ou mal vue, on considère que la colposcopie n'est pas satisfaisante.

La recherche des HPV potentiellement oncogènes n'est pas recommandée en première intention dans la prise en charge des lésions malpighiennes intra épithéliales de bas grade, car cette recherche est positive dans plus de 80 % de ces lésions. [3]



**Figure 7 :** Conduite diagnostique en cas de frottis cervico-utérin avec lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade LSIL [3]

❖ En cas de frottis avec lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade HSIL :

Après un frottis cervico-utérin HSIL, il est nécessaire de faire un examen colposcopique d'emblée. L'examen colposcopique permet de repérer les lésions et d'orienter les prélèvements qui doivent être de bonne qualité.

Chez ces patientes considérées à haut risque (cytologie de haut grade) une exérèse à visée diagnostique est indiquée. [41]

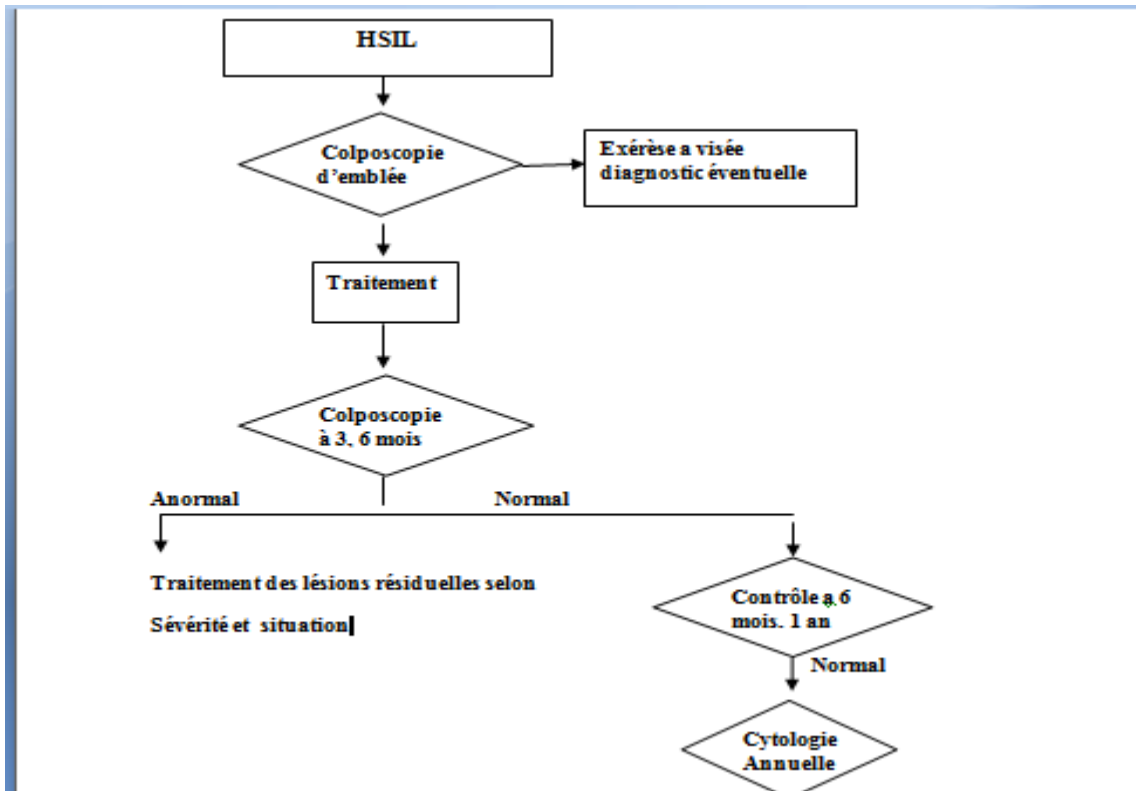


Figure 8 : Conduite à tenir devant un frottis HSIL [3]

### 3.1.4.2. Conduite diagnostique en cas de frottis avec anomalies des cellules glandulaires AGC :

Quelles que soient les anomalies des cellules glandulaires, une colposcopie avec biopsie dirigée et/ou curetage de l'endocol est recommandée.

Si de plus les anomalies des cellules glandulaires sont de type endométrial, un contrôle histologique de l'endomètre est recommandé.

Si ces examens sont normaux :

- ❖ En cas d'AGC :
  - il est recommandé de refaire un frottis à 6 mois ;
- ❖ En cas d'AIS ou adénocarcinome ou suggérant une néoplasie :
  - une conisation diagnostique associée à un curetage de l'endomètre est recommandée.

La place de la recherche des HPV est insuffisamment documentée dans la prise en charge des atypies des cellules glandulaires. [3]

## **3.2. La colposcopie :**

Colposcopie vient de « colpos », vagin en grec. Il s'agit de l'examen clé dans le diagnostic et le traitement des dysplasies du col.

La colposcopie permet d'établir une cartographie précise des lésions invisibles à l'œil nu.

Elle permet de localiser la lésion et l'histologie d'établir un diagnostic. La colposcopie permet donc de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une lésion du col suspectée par le FCU ou par l'examen clinique et surtout d'orienter la biopsie. **[59]**

### **3.2.1. Principes de la colposcopie :**

Celle-ci correspond à l'examen du col à la loupe binoculaire (colposcope), qui permet d'observer de petites surfaces et les lésions de l'endocol.

Le but est d'identifier la zone de transformation et d'y repérer une lésion éventuelle.

Celui-ci dure environ 5 à 10 minutes et est totalement indolore. Son inconfort est lié au stress et à la présence du spéculum dans le vagin pendant toute la durée de l'examen.

La colposcopie permet de réaliser des biopsies si nécessaire qui peuvent être douloureuses. **[21]**

### **3.2.2. Indication :**

Suite à l'action des virus HPV, l'épithélium de col de l'utérus, peut se transformer, et devenir précancéreux, ces anomalies étant suspectées grâce au frottis, une colposcopie est nécessaire pour les localiser et les mettre en évidence.

La colposcopie est souvent réalisée à la suite de :

- Frottis cervico-utérins anormaux nécessitant un examen approfondi du col utérin avec la réalisation des biopsies guidées.
- Parfois d'emblée, sans frottis cervical préalable si l'examen clinique à l'œil nu suspecte des anomalies nécessitant l'exploration.
- Dans le cadre de la surveillance des lésions déjà mises en évidence et traitées. **[59]**

### 3.2.3. Conditions de réalisation :

- L'examen colposcopique peut être fait à tout moment du cycle, mais impérativement en dehors de tout saignement (donc en dehors des règles).
- Un état infectieux devra être traité préalablement, car l'infection peut créer de fausses images pathologiques. [21]

### 3.2.4. Technique :

Elle comporte trois étapes :

❖ **Un examen sans préparation** : il se fait au coton avec ou sans sérum physiologique. Il a pour but d'observer la couleur de l'épithélium, de regarder la surface épithéliale et d'étudier son angioarchitecture (recherche de la présence de vaisseaux, d'ulcérations ou d'érosions).

❖ **Un examen à l'acide acétique à 2 %** : L'acide acétique permet de faire réagir les cellules anormales qui changent de couleur. Il les colore en blanc (coagulation des protéines, riches dans ces tissus). Il s'agit d'une étape essentielle pour explorer la limite interne de la lésion et la jonction endocol-exocol.

❖ **Examen après badigeonnage du col utérin au lugol** : (test de Schiller) le lugol colore en "brun" les cellules normales, riches en glycogène. il ne colore donc pas les zones pathologiques

Il permet de voir les aspects inflammatoires de la muqueuse et d'apprécier les caractéristiques des bords :

- Nets, évocateurs d'une dystrophie ou d'une transformation atypique de grade 1,
- Flous, correspondant à une ré-épithélisation normale ou faisant partie du tableau de transformation atypique de grade 2.

Pour que la colposcopie soit de qualité "satisfaisante", la zone de jonction endocol-exocol doit être visible dans sa totalité. [59]

### 3.2.5. Résultats :

En l'absence de lésion, le col ne blanchit pas après application d'acide acétique. La jonction pavimento-cylindrique est visible sous la forme d'un liseré blanc régulier.

Le col normal est brun et homogène après application du lugol.

En cas de lésion du col, différents aspects peuvent être observés :

- **Les aspects en faveur d'une lésion de bas grade (modifications mineures)** associent une délimitation régulière avec l'apparition progressive d'une zone blanche fine faiblement positive au lugol, avec une ponctuation fine et une mosaïque régulière et fine.
- **Les aspects en faveur d'une lésion de haut grade (modifications majeures)** associent une délimitation irrégulière d'une zone blanche dense qui disparaît lentement et est iodo-négative, à ponctuation épaisse et plages de larges mosaïques irrégulières et de taille variable.
- **Un cancer invasif** associe la présence d'une érosion à surface irrégulière ou d'une ulcération, des aspects blancs, de larges plages de mosaïque et de ponctuation irrégulières.

Dans les dysplasies sévères (CIN de grade élevé) qui sont le plus souvent associées aux HPV à risques élevés (HPV 16-18). L'épithélium anormal est reconnu par une acidophilie (réaction blanche après application d'acide acétique) au niveau de la zone de transformation dans laquelle peuvent être observés des orifices de glandes cernés.

L'importance de la réaction blanche est fonction du degré de l'hyperplasie cellulaire et des anomalies nucléaires.

Lorsque la lésion s'aggrave, on peut noter l'apparition d'une vascularisation anormale, d'une surface plus ou moins irrégulière et de modifications majeures dans le canal cervical.

Lorsque la lésion devient invasive, l'épithélium pavimenteux est friable, irrégulier, bourgeonnant par endroits, voire ulcéré et nécrotique, les vaisseaux sont franchement atypiques. Comparativement aux lésions associées aux HPV 6-11 comme les condylomes acuminés (lésions bénignes) développés sur la zone de transformation, on remarque que la tumeur est régulièrement acidophile avec parfois un aspect mamelonné ou papillaire. Le test au lugol reconnaît la lésion acuminée par sa recharge glycogénique inhomogène. [11] [21]

### 3.3. La biopsie :

Une biopsie est généralement requise pour établir avec certitude un diagnostic de cancer. Cette intervention consiste à prélever des cellules du col de l'utérus afin de les examiner au microscope. Si les cellules sont cancéreuses, il faudra ensuite déterminer leur rapidité à se multiplier. Il existe de nombreux types de biopsies : [92]

**La biopsie colposcopique** est pratiquée lors d'une colposcopie. Elle consiste pour le médecin à prélever une petite quantité de tissu dans les régions suspectes, principalement dans la partie inférieure du col. Un anesthésique local peut être utilisé pour insensibiliser le col de l'utérus.

Un curetage endocervical peut aussi être effectué à l'occasion d'une colposcopie pour vérifier la présence de modifications précancéreuses ou de cellules cancéreuses dans la partie supérieure du col de l'utérus.

Le médecin insère un instrument étroit en forme de cuillère, appelé curette, dans la partie supérieure du col menant à l'utérus. En grattant doucement la paroi de cette partie du col au moyen de la curette, il prélève un échantillon de tissu. Un anesthésique local peut être utilisé pour insensibiliser le col de l'utérus. [13]

**La biopsie conique ou conisation** est le prélèvement d'un fragment de forme conique de tissu du col de l'utérus. Elle sera pratiquée s'il est nécessaire d'obtenir un échantillon provenant des couches plus profondes du col.

L'échantillon sera prélevé au moyen d'un mince fil métallique chauffé par un courant électrique, d'un scalpel chirurgical (excision à la lame froide) ou d'un rayon laser (excision au laser). La biopsie conique nécessite une anesthésie générale, elle peut provoquer de légères crampes, de l'inconfort et des saignements pendant les deux à quatre semaines qui suivent l'intervention. Il arrive parfois que cette intervention permette de retirer toutes les cellules cancéreuses et qu'aucun autre traitement ne soit nécessaire par la suite.

Si la biopsie confirme le diagnostic de cancer du col de l'utérus et qu'il y a un risque que la maladie se soit étendue, d'autres tests pourront être requis pour vérifier le degré de propagation du cancer. [89]

### **3.4. Test HPV :**

#### **3.4.1. Conditions à respecter pour la réalisation d'un test HPV en biologie moléculaire :**

Les conditions d'identification, de fermeture des récipients et de température de conservation doivent être rigoureusement observées pour éviter tout risque d'erreur , de modification qualitative et/ou quantitative et de contamination.

##### **3.4.1.1. Phase pré-analytique :**

Au niveau de la structure ou secteur qui réalise le test HPV, le biologiste médical vérifie la conformité des prélèvements acceptés dans sa structure en fonction des techniques et procédures qui y sont pratiquées. Il s'assure de la quantité suffisante des prélèvements et de l'absence d'inhibiteur de PCR compte tenu du milieu utilisé, Il est en droit de refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires. Si les tests de détection ne sont pas réalisés à la suite, les échantillons et leurs fractions aliquotes peuvent être soit congelés directement dans le milieu de transport et conservés à -70 C soit préalablement centrifugés, dans ce dernier cas le traitement du culot d'ADN doit être réalisé selon les recommandations du fabricant du test. [89]

##### **3.4.1.2. Phase analytique :**

La phase analytique est dépendante du choix de la trousse et de l'automate. Un grand nombre de tests sont actuellement développés en France. Ces tests sont qualitatifs, basés sur des technologies d'hybridation ou des techniques d'amplification des acides nucléiques (ADN ou ARN). La plupart sont adressés uniquement pour la détection des HPV-HR avec une particularité pour certains qui permettent un typage sélectif (HPV16, HPV18, autre HPV-HR). D'autres permettent un génotypage plus étendu avec la détection de 16 à 24 types. Toutes ces trousse nécessitent d'être validées (validation analytique et clinique). [89]



### **3.4.1.3. Phase post-analytique :**

La phase post-analytique de validation et rendu de résultat est effectuée par le biologiste et doit tenir compte de l'ensemble des éléments relevés ci-dessus, en particulier les renseignements cliniques afin de valider son résultat. Le rendu de résultat doit être réalisé dans des conditions encadrées au vu de la sensibilité médiatique de la détection de ce virus, de la pertinence de la transmission du résultat du test HPV à la patiente, directement par courrier en particulier quand ce résultat est positif. [89]

## **3.4.2. Méthodes de détection et d'identification :**

### **3.4.2.1. Détection qualitative du génome HPV :**

Lors de la détection qualitative des HPV, deux types de résultats peuvent être obtenus : soit le résultat indique la présence (ou l'absence) de HR-HPV sans préciser le génotype exact, soit le résultat précise le génotype de l'HPV détecté.

### **A.Détection des HPV à haut risque sans précision du type :**

Ces techniques permettent de détecter la présence d'un ou de plusieurs HPV sans identifier le ou les génotypes précis présents dans l'échantillon.

#### **a.Southern-Blot :**

C'est la technique la plus spécifique et la plus fiable ; elle sert de référence.

Elle réalise une extraction de l'ADN à partir des prélèvements, suivie d'une digestion par des enzymes de restriction (endonucléases). Le résultat de cette digestion permet de distinguer l'état de l'ADN viral : épisomique ou intégré. Les différents fragments du génome sont séparés par migration électrophorétique sur gel d'agarose, puis transférés sur un filtre de nitrocellulose ou de nylon. À partir de ce filtre sera réalisée l'hybridation avec une sonde spécifique. Il est possible de déshybrider la membrane et de l'hybrider plusieurs fois avec de nouvelles sondes. [67]

Cette technique est longue et nécessite une quantité suffisante de matériel biologique .

Elle n'est pas envisageable en routine anatomopathologique ,car le prélèvement frais (de préférence pour la biologie moléculaire), voire fixe, serait entièrement « broyé » et digéré afin d'extraire l'ADN. En revanche, c'est une technique de choix en recherche, pour l'étude de nouveaux génomes d'HPV, avec l'établissement de cartes de restriction, la détection de l'intégration virale ou non ou encore de mutations et de variants.

Elle sert aussi à valider des réactions de PCR (hybridation contrôlée de fragments amplifiés avec une sonde centrale). [29]

### **b.Dot blot :**

Il s'agit d'une technique plus simple puisqu'elle ne comprend pas de digestion de l'ADN, ni de migration. L'ADN est extrait puis directement déposé sur une membrane de nylon où il sera hybridé avec les sondes spécifiques.

Cette technique est plus rapide, applicable à de grandes séries d'échantillons, mais a une sensibilité moindre par rapport au Southern-Blot. Le seuil de sensibilité est d'environ 1 copie virale par cellule. Cette technique est actuellement utilisée après une PCR pour augmenter la sensibilité et identifier le type viral.

De la même façon, le *reverse dot blot* est souvent utilisé après une PCR. Mais dans cette situation, l'ADN est amplifié avec incorporation d'un marqueur froid pendant la PCR. Le produit amplifié sera hybridé avec des sondes spécifiques déjà fixées sur une membrane. [67]

### **c.Hybridation en phase liquide :**

La spécificité diagnostique 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 antiduplex 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.

La sensibilité de cette technique est proche de celle de la PCR (*polymerase chain reaction*) 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. [29]

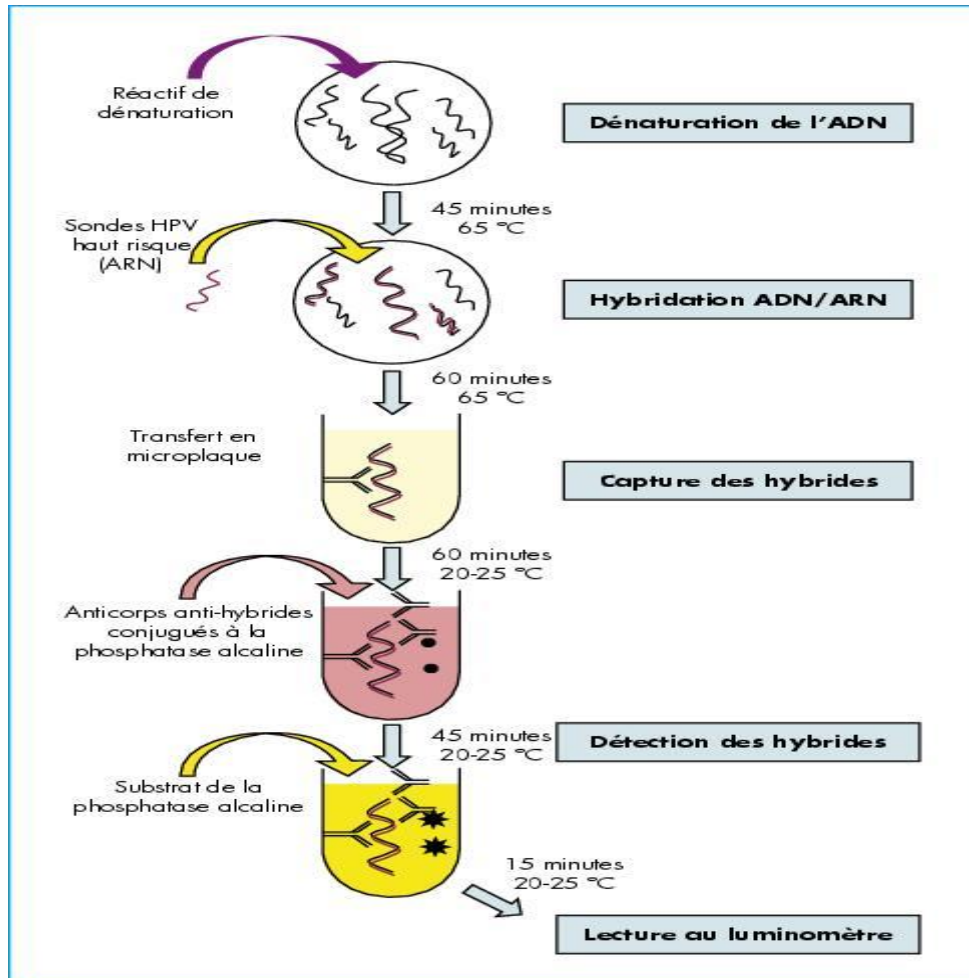


Figure 9 : Principe de la technique d'hybridation en phase liquide. [73]

#### d.hybridation in situ HIS :

Cette technique *in vivo* permet de localiser au microscope une hybridation cellulaire sur des coupes histologiques, sur des étalements cellulaires de type frottis, mais également sur des colonies bactériennes recombinantes.

Cette méthode d'HIS a ainsi permis la localisation précise de génomes viraux d'HPV, au niveau des cellules épithéliales du col utérin.

L'aspect au microscope peut laisser présager de l'état du génome viral : épisomal ou intégré. Un aspect ponctué, en grains d'hybridation, évoque une intégration de l'ADN d'HPV, alors qu'un aspect homogène diffus serait plutôt en faveur d'une forme épisomale de l'ADN viral, le seuil de détection est d'environ 20 à 50 copies par cellule.

Même si la technique peut-être automatisée, elle reste longue et délicate, nécessite une grande quantité de sondes, proportionnelle à la surface tissulaire ou cellulaire.

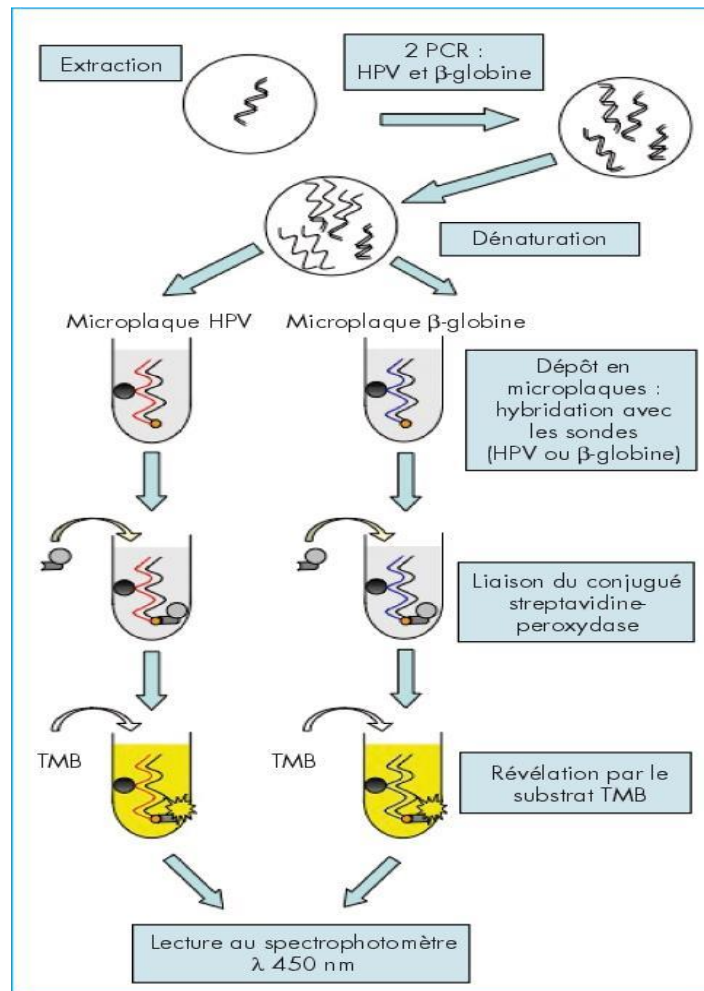
La sensibilité est modérée et donc insuffisante (environ 60 %), la spécificité est bonne. Cette technique est bien moins sensible que le Southern Blot, le Dot Blot ou la PCR ; elle est maintenant largement remplacée par des techniques plus sensibles, rapides et faciles, comme la PCR et l'hybridation en phase liquide. [29]

### e.PCR :

La PCR est une amplification d'une séquence d'ADN spécifique délimitée par deux amorces grâce à une polymérase bactérienne, la technique est automatisable, elle est d'une très grande Sensibilité, sa spécificité est liée au choix des amorces et à l'absence de contamination.

La révélation du produit amplifié se fait par migration électrophorétique sur gel et visualisation de la bande de poids moléculaire attendu.

Le diagnostic est confirmé par l'hybridation avec une oligosonde marquée. [29]



**Figure 10** : Principe de détection immuno-enzymatique des amplicons HPV. [73]

## **B. Détection des HPV à haut risque avec précision du type : génotypage**

Les techniques de génotypage comportent une étape d'amplification PCR d'un fragment d'ADN HPV.

Le choix de la région amplifiée doit répondre à deux contraintes ; une séquence ADN suffisamment conservée à ses extrémités afin de permettre une PCR de genre, mais divergente dans sa région interne pour autoriser le génotypage par comparaison avec des séquences de génotypes connus.

La réalisation d'une PCR contrôle, à partir d'un ADN cellulaire ubiquitaire, peut valider la qualité du prélèvement et le bon déroulement des étapes d'amplification et de révélation.

Ce test a plusieurs avantages :

- Estimer les prévalences spécifiques de types dans une population donnée (intérêt épidémiologique)
  - Evaluer l'importance des infections simples et multiples
  - Mesurer avec précision la persistance d'une infection pour chaque type de virus (en dépistage primaire, triage des ASC-US et en suivi post-conisation). En effet, il est important de savoir pour une prise en charge adaptée s'il s'agit d'une infection persistante à un type donné (risque majoré) ou d'infections successives avec des types différents (risque moindre)
    - Estimer un risque de progression vers une lésion intraépithéliale de haut grade du col utérin (intérêt surtout pour les types 16 et 18) ;
    - Fournir un critère d'éligibilité des femmes ayant des rapports depuis plus d'un an qui désirent bénéficier de la vaccination HPV .
    - Offrir la possibilité de transmettre une meilleure information aux patientes. [29]

### **a. Génotypage par séquençage :**

C'est la méthode de référence puisque c'est la séquence complète de la région L1 qui définit les différents génotypes d'HPV. Mais elle présente comme inconvénient principal de ne pas pouvoir analyser les infections multiples.

Le principe du séquençage consiste à déterminer la séquence de l'ADN cible amplifié pour la comparer à l'ensemble des séquences génomiques disponibles dans la banque de données GenBank à l'aide du logiciel Blast.

La région la plus fréquemment utilisée est située au niveau du gène codant la protéine de capsid L1 car les différents génotypes des HPV ont été définis par alignement de la séquence complète de cette région.

Après séquençage, les échantillons sont ensuite classés en HR ou BR d'après les données de la littérature : les HPV type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, et 82 sont classifiés comme HR ; les types 6, 11, 40, 42, 43,44, 54, 61, 70, 72, 81, et CP6108 sont classifiés comme BR, et les types 26, 53 et 66 sont considérés comme probablement oncogènes. [29] [47]

### **b.Génotypage par sondes immobilisées sur bandelettes :**

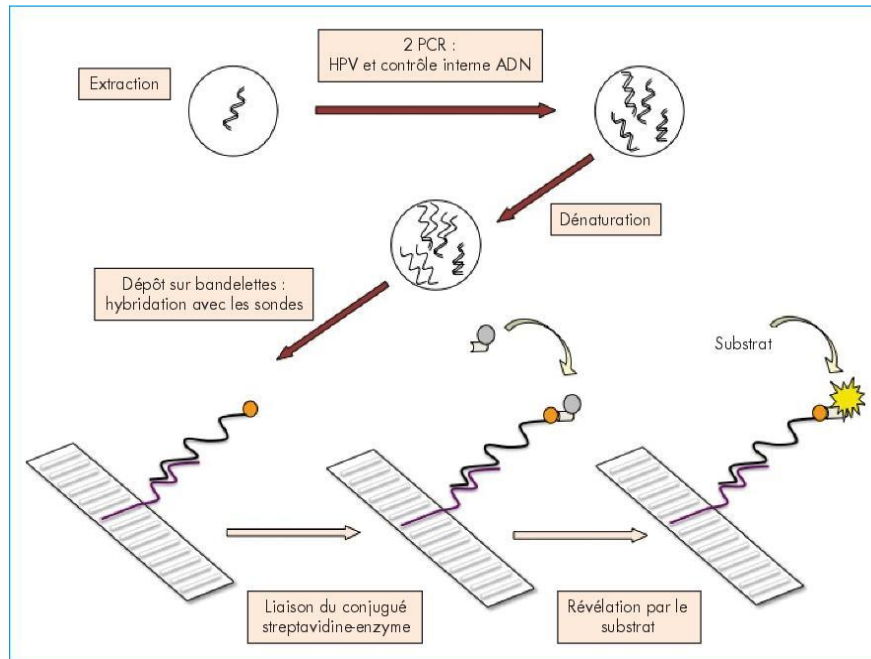
Cette technique utilise le principe de l'hybridation inverse , avec des sondes oligonucléiques fixées sur des bandelettes . Deux tests ont à ce jour fait la preuve de leur efficacité :le test Linear Array Genotyping Test® (Roche Diagnostics) et le test INNO-LiPA HPV Genotyping Extra® (Innogenetics) . [29] [47]

**\*Le Linear Array Genotyping Test®** est un test qualitatif qui permet d'identifier 37 génotypes d'HPVs : 15 HPV de haut risque, trois HPV potentiellement à haut risque et 19 HPV de bas risque.

Il consiste en une amplification de l'ADN préalablement extrait par PCR avec les amorces consensus biotinylées PGMY09/11.

Cette PCR permet l'obtention d'amplicons biotinylés de 450 pb qui vont ensuite être dénaturés puis hybridés avec des sondes spécifiques de types, immobilisées sur bandelettes. Les hybridats formés vont être révélés par ajout de streptavidine couplée à une peroxydase : la streptavidine se lie aux amplicons biotinylés hybridés et l'ajout du substrat de la peroxydase entraîne la formation d'un précipité bleu sous forme de bande. Par comparaison à la bandelette de référence, il est ainsi possible d'identifier le ou les génotypes HPV présents. [29]

**\*Le test INNO-LiPA®** est basé sur le même principe : l'ADN extrait est amplifié par PCR avec des amorces consensus SPF10 biotinylées, les amplicons de 65 pb obtenus sont révélés sur bandelettes. Les génotypes identifiés sont déterminés par comparaison avec la bandelette de référence. Ce test détecte 28 génotypes HPV : 18 HPV de haut risque, 7 HPV de bas risque et 3 HPV non classés. [29]



**Figure 11 :** Principe de génotypage par hybridation inverse sur bandelettes. [73]

### c. Génotypage par puce à ADN :

Cette technique de biologie moléculaire est en plein essor et permet un génotypage rapide. La PCR HPV 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 HPV multiples. [79]

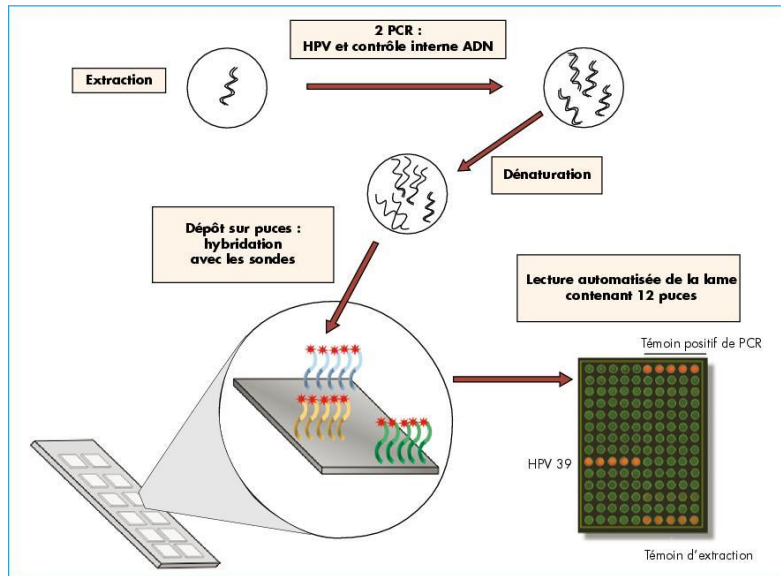


Figure 12 : Principe de génotypage par hybridation inverse sur puces à ADN . [73]

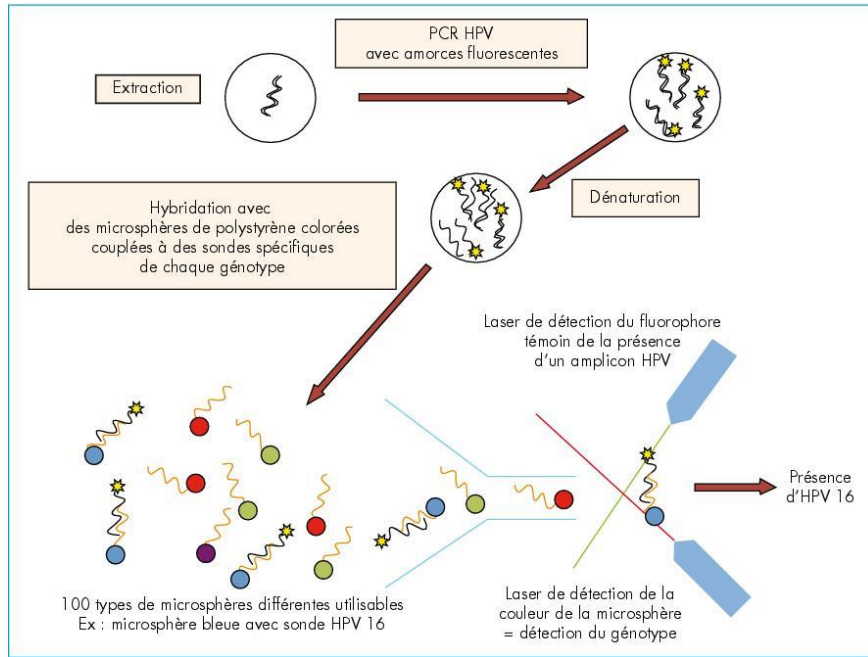
#### d.Génotypage par technologie d'array en suspension (xMAP) ou Luminex® :

Le principe repose sur l'utilisation de microbilles de polystyrène couplées à des sondes oligonucléotidiques spécifiques de chaque génotype d'HPV. Les billes sont marquées par un fluorophore spécifique pour chaque type tandis que l'amplicon est marqué par un autre fluorophore.

L'analyse est effectuée par cytométrie de flux à 2 lasers permettant de détecter simultanément des réactions multiples dans un même tube.

Plusieurs approches ont été décrites, mais une seule est commercialisée à ce jour. Il s'agit du test Digene HPV Genotyping LQ Test® (Qiagen), qui amplifie le gène L1 à partir des amorces GP5+/GP6+ et permet de génotyper les 13 HPV HR détectés dans le panel du test de dépistage HC2 ainsi que 5 HPV probablement à HR (26, 53,66, 73, 82) [32]. La détection est effectuée sur l'automate ; 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'HR-HPV présents dans le prélèvement. [47]





**Figure13 : Principe de génotypage par technique Luminex. [73]**

### 3.4.2.2. Détection quantitative du génome HPV :

Ces techniques évaluent la charge virale d'un type précis d'HPV. La quantité de virus détectée dans les frottis pourrait être liée au grade de la lésion et donc être un facteur pronostique, mais les résultats sont parfois contradictoires.

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.

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. [73]

### 3.4.2.3. Détection des ARNm HPV :

Puisque les protéines oncogéniques E6 et E7 sont responsables de la carcinogénèse 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*), les ARN viraux et cellulaires extraits des prélèvements cervicaux sont rétrotranscrits en ADN par la transcriptase inverse. L'une des deux amorces utilisées 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. **[73]**

## CHAPITRE 5 : LA VACCINATION ANTI *HPV*

Le fait que le cancer du col utérin soit la conséquence ultime de l'infection chronique à HPV procure l'extraordinaire opportunité de les prévenir par la vaccination.

Deux objectifs existent en termes de vaccination anti-HPV :

Le premier était de mettre au point une vaccination prophylactique qui allait empêcher le virus d'atteindre sa cible, la cellule épithéliale basale et d'empêcher ainsi l'infection, C'est ce qui est obtenu après vaccination par la particule vide L1 qui induit une synthèse d'anticorps présents à la surface de la muqueuse. Il s'agit d'un vaccin stérilisant pour lequel le bénéfice attendu est d'empêcher l'infection virale. [57]

Le deuxième objectif répond à la définition d'un vaccin thérapeutique qui est administré une fois que l'infection a déjà eu lieu, voire au stade de tumeur. Il s'agit alors de générer des cellules du système immunitaire (lymphocytes T CD4 et CD8, par exemple) qui sont capables de détruire les kératinocytes anormaux et ainsi d'éliminer les lésions. Ces vaccins ciblent les protéines E6 et E7 des HPV oncogènes. [57]

### 1. indications :

#### 1.1. Vaccination des filles :

L'infection de la sphère anogénitale par les papillomavirus humains est très fréquente et s'acquiert, la plupart du temps, dans les cinq années suivant les premiers rapports sexuels. [46]

La vaccination anti HPV est plus efficace chez les filles qui n'ont pas été exposées aux types d'HPV liés au vaccin. C'est pourquoi il serait plus efficace de viser les filles jeunes ; L'OMS recommande que la première population cible soit choisie en fonction des données relatives à l'âge du début de l'activité sexuelle bien que l'âge des premiers rapports sexuels varie selon les pays, les cultures, la société.[60] [91]

#### 1.2. Vaccination des garçons :

Les garçons peuvent être infectés par le HPV et peuvent développer des maladies associées au HPV telles que le cancer pénien, anal et oral, ou des verrues génitales.

Cependant, seulement 7% des cancers causés par le HPV 16 ou 18 se produisent chez les hommes. Certains experts estiment que vacciner à la fois les garçons et les filles bénéficieraient aux filles, car elles sont infectées par leurs partenaires sexuels masculins ; mais les modèles mathématiques suggèrent que cette stratégie ne serait généralement pas rentable dans la plupart des milieux , car vacciner les deux sexes nécessiterait des ressources financières plus importantes. Il serait donc plus judicieux de concentrer les ressources pour atteindre plus de filles pour les vacciner contre le HPV, plutôt que de diviser ces ressources entre filles et garçons. [91]

## **2. les types de vaccins :**

### **2.1. Vaccination prophylactique :**

Les vaccins prophylactiques ont été conçus grâce à la découverte de la propriété d'autoassemblage en grande quantité de la protéine majeure de capsid L1 du virus HPV dans différents systèmes eucaryotes ce qui a permis la formation de pseudo-particules virales VLP.

Les VLP ont la même morphologie que celle des virions, mais ne contiennent pas de génome viral, les vaccins à base de VLP sont produits par l'insertion du gène L1 (gène indemne de séquence oncogène) dans des cellules d'insectes (infectées par des baculovirus) ou dans des levures (*saccharomyces cerevisiae*).

L'injection des VLP chez l'homme permet la production de titres élevés d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine L1. Ces anticorps vont transsuder à travers les muqueuses génitales et être présents dans les sécrétions cervicovaginales pour neutraliser le virus au moment de la première exposition, [39] les vaccins visant à obtenir des anticorps dirigés contre différents HPV devront être fabriqués avec des mélanges de VLP correspondant aux différentes protéines de capsid L1 des différents HPV. [46]

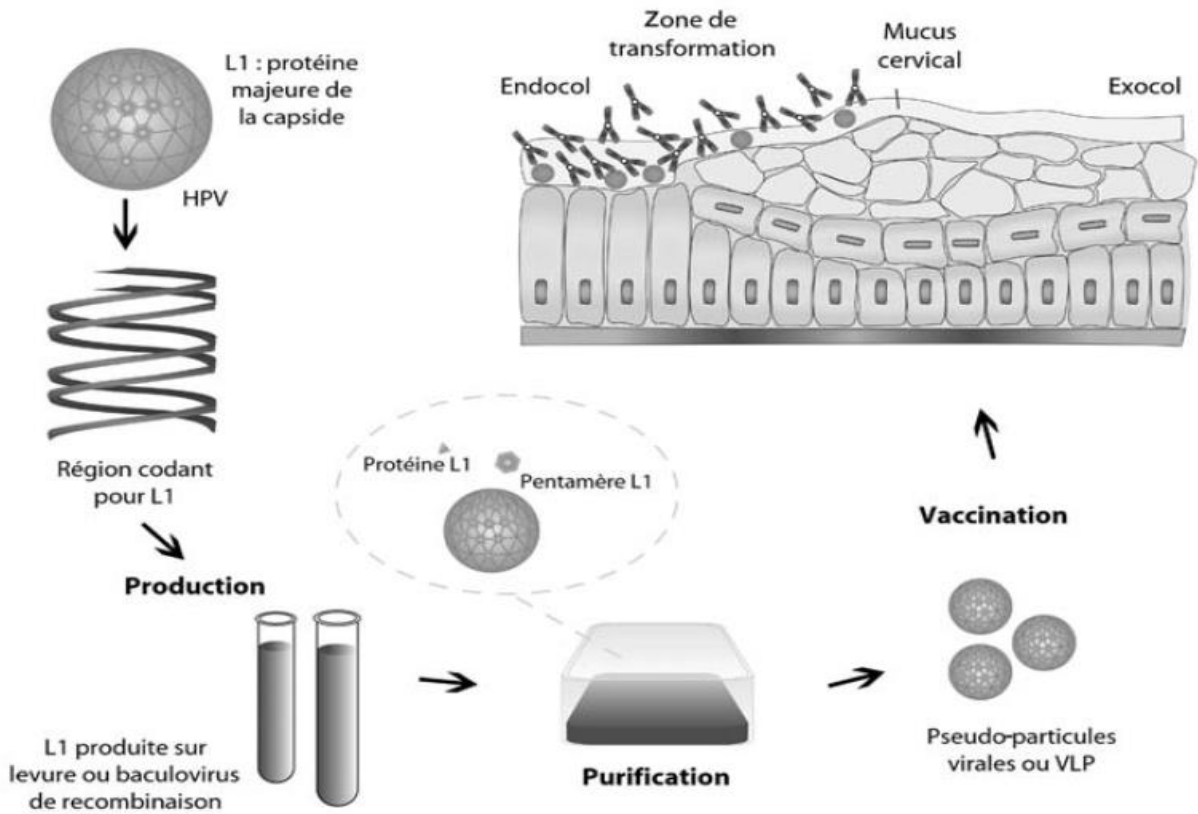


Figure14 : Représentation schématique de la production de VLP de HPV et de la vaccination au moyen de ces pseudos particules virales. [46]

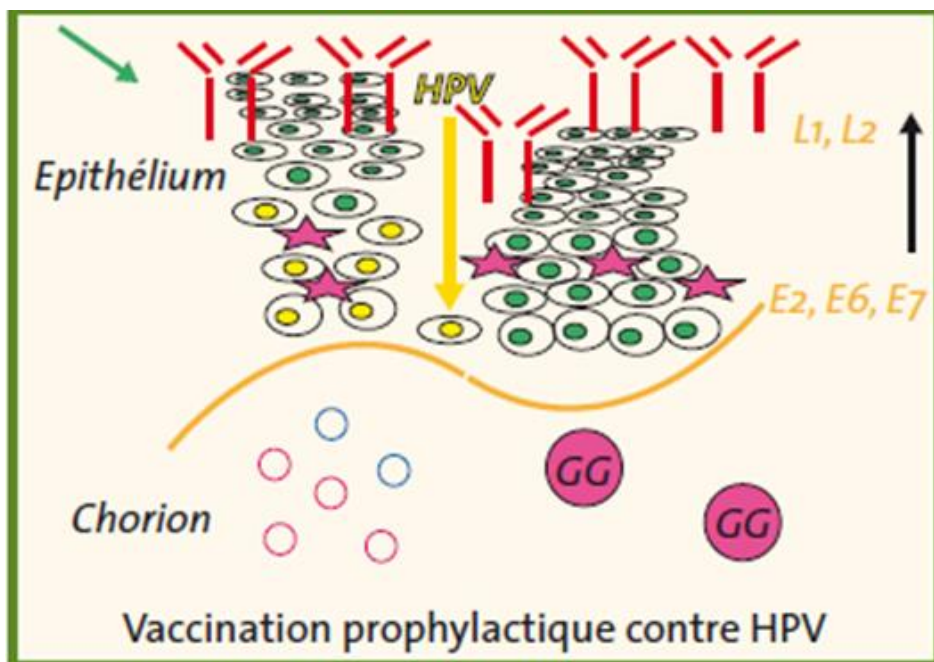


Figure 15 : Mécanisme de protection par les anticorps. [46]

Deux vaccins prophylactiques contre certains génotypes de *Papillomavirus* sont actuellement commercialisés : [22]

### **2.1.1. GARDASIL :**

#### **a) Description**

Vaccin papillomavirus humain quadrivalent [types 6, 11, 16, 18] (recombinant, adsorbé).  
Le Gardasil est commercialisé par la firme Merck & Co aux États-Unis (2006) [104]

#### **b) Classe**

Inerte - Protéine recombinante

#### **c) Adjuvant**

Sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium

#### **d) Forme et présentation**

#### **Gardasil, suspension injectable :**

Dose de 0,5 ml de suspension en flacon (verre) muni d'un bouchon (élastomère chlorobutyl recouvert de FluoroTec ou recouvert de Teflon) et capuchon flipp-off en plastique (bague en aluminium sertie), boîtes de 1, 10 ou 20. [98]

#### **Gardasil, suspension injectable en seringue préremplie :**

Dose de 0,5 ml de suspension injectable en seringue préremplie (verre) munie d'un bouchon-piston (élastomère bromobutyl recouvert de FluoroTec siliconé ou élastomère chlorobutyl) et d'un capuchon (bromobutyl), sans aiguille ou avec une ou deux aiguille(s) – boîtes de 1, 10 ou 20.

Avant agitation, Gardasil peut apparaître comme un liquide clair avec un précipité blanc. Après une agitation minutieuse, le liquide est blanc, trouble. [98]

### e) **Composition**

Une dose (0,5 ml) contient environ :

- Protéine L1 de papillomavirus humain<sup>1</sup> de type 6<sup>2,3</sup> 20 µg
- Protéine L1 de papillomavirus humain<sup>1</sup> de type 11<sup>2,3</sup> 40 µg
- Protéine L1 de papillomavirus humain<sup>1</sup> de type 16<sup>2,3</sup> 40 µg
- Protéine L1 de papillomavirus humain<sup>1</sup> de type 18<sup>2,3</sup> 20 µg

<sup>1</sup> Papillomavirus humain = HPV.

<sup>2</sup> Protéine L1 sous la forme de pseudo-particules virales produites sur des cellules de levure (*Saccharomyces cerevisiae* CANADE 3C-5 [souche 1895]) par la technique de l'ADN recombinant.

<sup>3</sup> Adsorbée sur sulfate d'hydroxyphosphate d'aluminium amorphe (Al : 0,225 mg) comme adjuvant.

Excipients :

- Chlorure de sodium
- L-histidine
- Polysorbate 80
- Borate de sodium
- Eau pour préparations injectables [98]

### f) **Indications**

Gardasil est un vaccin indiqué à partir de 9 ans pour la prévention des :

- Lésions génitales précancéreuses (du col de l'utérus, de la vulve et du vagin), lésions anales précancéreuses, du cancer du col de l'utérus dues à certains types oncogènes de Papillomavirus Humains .
- Verrues génitales (condylomes acuminés) dus à des types HPV spécifiques. [98]

### g) **Posologie**

➤ **Sujets âgés de 9 à 13 ans inclus :**

Gardasil peut être administré selon un schéma en 2 doses (0,5 ml, à 0, 6 mois).

Si la 2ème dose du vaccin est administrée moins de 6 mois après la 1ère dose, une 3ème dose devra toujours être administrée.

Gardasil peut également être administré selon un schéma en 3 doses (0,5 ml, à 0, 2, 6 mois).

La deuxième dose doit être administrée au moins 1 mois après la première dose, et la troisième dose doit être administrée au moins 3 mois après la deuxième dose. Les trois doses doivent être administrées en moins d'un an. [98]

➤ **Sujets âgés de 14 ans et plus :**

Gardasil doit être administré selon un schéma en 3 doses (0,5 ml, à 0, 2, 6 mois).

La deuxième dose doit être administrée au moins un mois après la première dose, et la troisième dose doit être administrée au moins 3 mois après la deuxième dose. Les trois doses doivent être administrées en moins d'un an.

Gardasil doit être utilisé selon les recommandations officielles. [98]

**h) Mode d'administration**

Le vaccin doit être administré par voie intramusculaire; le vaccin doit être injecté de préférence dans la région deltoïdienne de la partie supérieure du bras ou dans la région antérolatérale supérieure de la cuisse.

Gardasil ne doit pas être injecté par voie intravasculaire . Les administrations sous-cutanées et intradermiques n'ont pas été évaluées. Ces modes d'administration ne sont pas recommandés. [94]

**i) Contre-indications**

- Hypersensibilité aux substances actives ou à l'un des excipients du vaccin.
- Les sujets ayant présenté des symptômes indiquant une hypersensibilité après l'administration d'une dose de Gardasil ne doivent pas recevoir d'autres doses de Gardasil.
- L'administration de Gardasil doit être différée chez les individus souffrant d'une maladie fébrile aiguë sévère. Cependant, la présence d'une infection mineure, comme une infection bénigne des voies respiratoires supérieures ou une fièvre peu élevée, n'est pas une contre-indication à la vaccination. [94]



## j) Efficacité

Dans l'extension à long terme des études cliniques, aucun cas d'une maladie due à un HPV (lésions génitales précancéreuses de tous grades et verrues génitales dues aux HPV de types 6, 11, 16 ou 18) n'a été observé chez les filles vaccinées après un suivi médian de 6,9 ans.

la protection à 3,6 ans vis-à-vis de CIN2+ induites par 12 HPV oncogènes muqueux (HPV 16,18, 31, 33,35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) est de 43 % . **[46]**

### 2.1.2CERVARIX :

#### a) Description

Vaccin Papillomavirus Humains bivalent (types 16, 18) recombinant, avec adjuvant, adsorbé  
Le Cervarix®, commercialisé par GlaxoSmithKline depuis 2007. **[104]**

#### b) Classe

Inerte - Protéine recombinante

#### c) Adjuvant

Hydroxyde d'aluminium, AS04 contenant du 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipide A (MPL).

#### d) Forme et présentation

**Suspension injectable en IM** : Seringue préremplie de 0,5 ml + 1 aiguille, boîte unitaire. **[98]**

#### e) Composition

Par dose (0,5 ml) :

- Protéine L1 de Papillomavirus Humain (1) de type 16 (2)(3)(4) (20 µg)
- Protéine L1 de Papillomavirus Humain (1) de type 18 (2)(3)(4) (20 µg)
- Excipients : chlorure de sodium, phosphate monosodique dihydraté, eau ppi.

- 1) Papillomavirus Humain = HPV.  
 (2) Avec adjuvant AS04 contenant du 3-O-desacyl-4'-monophosphoryl lipide A (MPL) 50 µg.  
 (3) Adsorbé sur hydroxyde d'aluminium hydraté Al(OH)<sub>3</sub> : 0,5 mg Al<sub>3+</sub> au total.  
 (4) Protéine L1 sous forme de pseudo particules virales non infectieuses produites par la technique

de l'ADN recombinant avec un système d'expression utilisant le Baculovirus et les cellules Hi-5 Rix4446 dérivées de *Trichoplusia ni*. [98]

**f) Indications**

Cervarix est un vaccin indiqué, à partir de l'âge de 9 ans, dans la prévention des lésions anogénitales précancéreuses (du col de l'utérus, de la vulve, du vagin et de l'anus) et des cancers du col de l'utérus et de l'anus dus à certains types oncogènes de Papillomavirus Humains. Cervarix doit être administré selon les recommandations officielles. [98]

**g) Posologie**

Le schéma de vaccination dépend de l'âge du sujet.

<b>Age au moment de la première injection</b>	<b>Vaccination et schéma</b>
De 9 à 14 ans inclus*	Deux doses de 0,5 ml chacune. La deuxième dose est administrée entre 5 et 13 mois après la première dose
A partir de 15 ans et plus	Trois doses de 0,5 ml chacune à 0, 1, 6 mois**

**Tableau IV : Schéma de vaccination en fonction de l'âge [46]**

Si la deuxième dose du vaccin est administrée avant le 5ème mois suivant la première dose, une troisième dose doit toujours être administrée.

Si une flexibilité est nécessaire dans le schéma vaccinal, la deuxième dose peut être administrée entre 1 mois et 2,5 mois après la première dose et la troisième dose entre 5 et 12 mois après la première dose.

Il est recommandé aux sujets qui ont reçu une première dose de Cervarix de terminer le schéma de vaccination avec Cervarix

### h) **Mode d'administration**

- Voie intramusculaire, dans la région deltoïdienne.
- Cervarix ne doit pas être administré par voie intravasculaire ou intradermique.
- Il n'existe pas de donnée disponible sur l'administration de Cervarix par voie sous-cutanée.
- Si Cervarix est co-administré avec un autre vaccin injectable, les vaccins doivent toujours être administrés en des sites d'injection différents. [98]

### i) **Contre-indications**

- Hypersensibilité aux substances actives ou à l'un des excipients.

### j) **Efficacité**

il a été récemment démontré, chez des femmes HPV négatives au début de la vaccination, une protection de 70 % à 3 ans vis-à-vis de CIN2+ induites par 14 HPV oncogènes muqueux (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68). [46]

## **2.2. Vaccination thérapeutique :**

Le but de la vaccination thérapeutique est de sensibiliser les cellules immunocompétentes pour neutraliser l'infection HPV déjà installée et faire régresser les lésions précancéreuses, voire les cancers du col utérin.

Les vaccins thérapeutiques peuvent être formés à partir de peptides libres, de protéines recombinantes, de virus ou de bactéries recombinants associés à des gènes codants pour certains types d'HPV, à partir de fragments de plasmide ADN ou de cellules dendritiques sensibilisées par des antigènes viraux. Tous stimulent l'immunité T cellulaire en présentant les antigènes vaccinaux à la surface des cellules qui les ont intégrés en association avec les molécules HLA de classe I ou II afin de stimuler respectivement les lymphocytes T CD8+ et CD4+.

Les premiers essais de vaccination thérapeutique ont été réalisés chez les patientes ayant un cancer du col invasif.

L'efficacité des vaccins peptidiques, des virus recombinants et des cellules dendritiques s'est avérée être décevante en termes de réaction immunitaire et surtout de réponse clinique.

Seul ou en association avec les traitements conventionnels, aucun vaccin n'a montré de bénéfice sur la réponse tumorale ou la survie. [18]

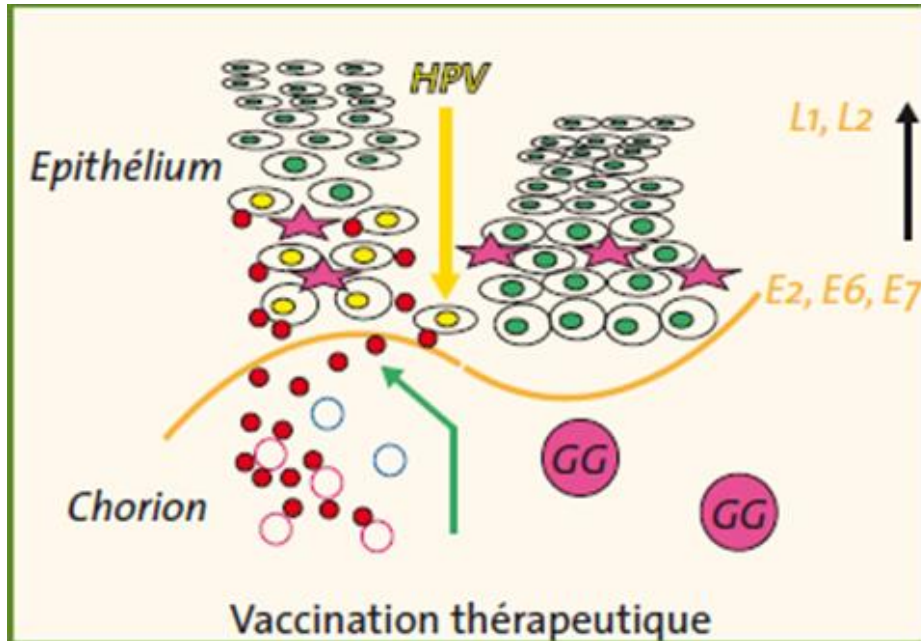


Figure 16 : Mécanismes de défenses par les lymphocytes T . [39]

### 3. Impact de la vaccination dans la lutte contre le cancer du col :

Les vaccins HPV ont pour but d'induire la synthèse d'anticorps dirigés contre les Papillomavirus humains, administrés avant les premiers rapports sexuels, ces vaccins vont prévenir les cancers dus au HPVs notamment le cancer du col de l'utérus ainsi que les autres lésions associées. [50]

L'utilisation du vaccin contre l'infection par les HPV de types 16 et 18 devrait permettre de voir diminuer, au fil de la couverture vaccinale, non seulement les cancers qui demandent de nombreuses années à se constituer, mais aussi les lésions précancéreuses. Ainsi, avec une couverture vaccinale, près de 80% des cancers pourraient être prévenus, ce sont environ 50% des CIN 1 et les deux tiers des CIN 2/3 qui seraient également évités, c'est-à-dire des milliers de lésions, de consultations et de traitement.

La diminution des cancers, des CIN et des condylomes grâce au vaccin permettra d'aboutir, non seulement à une meilleure qualité de vie des patientes, mais aussi, à long terme, à une économie sur les coûts de leur prise en charge médicale. [50]

Toutefois, l'impact mesurable sur l'objectif final de la vaccination, la réduction de l'incidence des lésions invasives, sera largement fonction du taux réel de couverture vaccinale de la population. Des simulations, effectuées à partir de modèles mathématiques faisant évoluer des cohortes virtuelles de patientes ont apporté des informations intéressantes. Par exemple, si l'on suppose une campagne de vaccination pendant vingt années, avec une vaccination des jeunes filles dès l'âge de 14 ans, on observe pendant cette période que, pour un taux de couverture vaccinale de 50% de la population, seulement 30% des cancers seront évités. Ce pourcentage passe à 50% si l'on étend la couverture jusqu'à 70% des jeunes filles concernées et atteint à peu près 80% si toute la population est vaccinée. **[54]**

On comprend donc que le pari de la vaccination ne sera réellement gagné que si le vaccin HPV est rapidement administré à toutes les jeunes filles. **[45]**

Les résultats d'efficacité sont consistants et réellement impressionnants. Ils justifient certainement les espoirs et les perspectives optimistes qu'ouvre l'arrivée des vaccins HPV.

Cependant, il faut rester prudent et ne pas commettre d'erreur en pensant que les vaccins protégeront à 100% contre tous les cancers du col de l'utérus.

Les vaccins doivent être considérés comme permettant de réduire le risque de développement d'un cancer du col de l'utérus et non comme un vaccin anti-cancer du col cervical.

En effet, même dans l'hypothèse d'une immunisation de la totalité de la population, il est évident que la vaccination contre les deux types à haut risque les plus fréquents ne peut remplacer le dépistage des lésions puisqu'un quart des cancers environ seront toujours observés, conséquence d'infections par d'autres types d'HPV.

C'est donc la combinaison vaccination-dépistage qui permettra un meilleur contrôle de ce cancer. **[18]**

## Conclusion :

Le papillomavirus humain (HPV) est responsable de pathologies variées, le plus souvent bénignes (verrues cutanées, condylomes ano-génitaux...) mais constitue également la principale cause des cancers du col de l'utérus. Les plus fréquemment en cause sont les HPV à haut risque oncogène 16 et 18 qui sont responsables au développement des lésions cancéreuses.

Le cancer du col reste un fardeau mondial en termes de fréquence, de morbidité, de mortalité, mais également d'un point de vue économique. Ce cancer pourrait quasiment disparaître compte tenu des possibilités de prévention.

Le dépistage des anomalies histologiques précancéreuses par frottis cytologique a amené à la diminution notable de l'incidence du cancer du col de l'utérus dans tous les pays qui ont prôné ce dépistage depuis près d'un demi-siècle. Toutefois, cette méthode a montré ses limites, et sa tentative d'extension aux pays en voie de développement a été à quelques rares exceptions un échec.

L'amélioration des connaissances, l'optimisation des techniques, et le début de l'ère vaccinale anti-HPV permettent aujourd'hui d'espérer obtenir une raréfaction de ce cancer.

Non seulement la biologie moléculaire permet d'éviter le douloureux problème des faux négatifs d'un dépistage primaire, mais également en usant de la charge virale, du génotypage et de la recherche de certains marqueurs du cycle cellulaire, permettra peut être de sérier parmi les femmes HPV positives et donc à risque, celles qui sont réellement à risque de développer une lésion invasive.

La prévention par vaccination est démontrée comme étant efficace en termes de réduction de risque d'au moins 70 %, et de nombreux travaux sont aujourd'hui en cours sur des vaccins thérapeutiques et sur des molécules immunomodulatrices. Mais ceci ne remettra pas en cause le dépistage qui restera nécessaire même s'il doit s'améliorer.

## Bibliographie :

- [1] Aloysius J. Klingelutz and Ann Roman .Cellular transformation by human papillomaviruses: Lessons learned by comparing high- and low-risk viruses ;Virology 2013.
- [2] Anaëlle Bonetta, Exploration de nouvelles voies thérapeutiques contre le cancer du col de l'utérus : approche combinée par adénovirus et ARN interférence, Thèse ; France ; Janvier 2013.
- [3] Anaes Service des recommandations professionnelles et service évaluation économique. Recommandations pour la pratique clinique - Conduite à tenir devant une patiente ayant un frottis cervico-utérin anormal – Synthèse des recommandations. Septembre 2002.
- [4] Anne auray. Les différents génotypes de papillomavirus ou hpv et dépistage du cancer du col utérin, Thèse ; 10 juin 2003.
- [5] Anne Goffard ; infections a papillomavirus Thèse ; 2012.
- [6] Baya ousaiid ; vaccination contre le papillomavirus humains ; enquête sur de niveau de connaissance de la population nantaise a l'officine ; Thèse ; 9 mars 2010 .
- [7] Bernard Blanc ; Le dépistage du cancer du col de l'utérus France, 2005.
- [8] Biologie des infections à papillomavirus. III. Réponse immunitaire Volume 56, numéro 3, Mai-Juin 1998.
- [9] Bouvenot gilles, Caulin charles . Guide du bon usage du médicament (2° ed.) ; 11-2011.
- [10] C. Gonthier, D. Heitz ;Cancer du col de l'utérus Elsevier Masson SAS ; 2016.
- [11] C. Quereux, J.-C. Boulanger, J.-P. Bory et al. Dépistage du cancer du col, place de la colposcopie ; 2007.
- [12] C. Renaud-Vilmer, S. Lasry, A. Labib, B. et al. Pathologie maligne vulvaire chez l'adulte Elsevier Masson SAS 2008.
- [13] Cancer du col de l'utérus Comprendre le diagnostic, Société canadienne du cancer, 2013.
- [14] Castellsague X, Bosh FX, Munoz M, Environemental cofactos in HPV carcinogenesis . Virus Res., 8 : 191-9, 2002.
- [15] -Ch. Mougin, B. Bernard, M. Lab , Biologie des infections à papillomavirus. I. Caractéristiques générales Volume 55, numéro 6, Novembre - Décembre 1997.

- [16] Ch. Mougin , O. Humbey, C. Gay, et al. Papillomavirus humains Biologie médicale, -Volume 3, Numéro 2, Pages 1-3. 2008.
- [17] -Charlotte Boulade-Ladame ; Cancer du col de l'utérus : Etude de l'oncoprotéine E6 du papillomavirus humain de type 16 et adressage de vecteurs adénoviraux . Thèse, 7 septembre 2009 .
- [18] Coursaget p, Touze A. Les vaccins contre les papillomavirus. Virologie, : 353-68,10 2006
- [19] Denis f, Hanz s, Alain s. clairance, persistance et récurrence de l'infection à Papillomavirus. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 36 : 430–440. 2008.
- [20] Doobar J, Ely S, Sterling J, Specific interaction between HPV16-E1-E4 and cytokeratins result in collapse of the epithelial cell intermediate filament network nature, 352,824 ,7,1991.
- [21] Dr Aly Abbara colposcopy 25 Février, 2017.
- [22] Dr Aly Abbara ; Les vaccins contre les papillomavirus humains.
- [23] Dr P. Tranbaloc ; lexique de la Cytologie du col utérin extrait du Lexique Cytologique. 1996.
- [24] Essaada Belglaiiaa ; Genotypage moléculaire des papillomavirus humains chez des femmes `a risque de cancer du col de l'utérus : implication pour le dépistage et la prévention 24 Oct 2016.
- [25] F. Puech ;collège national des gynécologues et obstétriciens français extrait des mises à jour en gynécologie médicale ; 10 décembre 2010.
- [26] François aubin ; jean-luc prété ; christiane mougin lavoisier ; Papillomavirus humains : biologie et pathologie tumorale 2003.
- [27] Gordon Wilson ; Lecture: Infectious Disease Causes of Cancer: Opportunities for Prevention and Treatment 126: 117–132. 2015.
- [28] H. Rakotomahenina, C. Bonneau, R. Ramanah, et al. Épidémiologie, prévention et dépistage du cancer du col de l'utérus Elsevier Masson SAS. 2015.
- [29] Hervé Debaquea, Maj Liv Eideb ; détection methods and genotyping techniques in screening for cervical cancer Elsevier Masson SAS 2012.
- [30] Hughes FJ, Romanos MA. E1 protein of human papillomavirus is a DNA 25;21(25):5817-23. 1993.



- [31] Hughes FJ ; Proteins encoded by the bovine papillomavirus E1 open reading frame: expression in heterologous systems and in virally transformed cells.
- [32] I. Sobhan F. Walker , Human Papilloma Virus (HPV) Le Courrier de colo-proctologie (II) - n° 2 - juin 2001.
- [33] Ian H. Frazer FIGURE 2 | The location in squamous epithelium of the main stages of the papillomavirus life cycle. From the following article: Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination.
- [34] J. Lansac ,Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale–Volume 2007.
- [35] J. Lansac ; Extrait des Mises à jour en Gynécologie Médicale–Volume 2008 publié le 3.12.2008.
- [36] J. Lansac ; Extrait des Mises à jour en Gynécologie et Obstétrique – Tome XXXIII publié le 9.12.2009.
- [37] J. Monsonogo. m/s n° 6-7, vol. 12, juin-juillet 96.
- [38] ) J.-J. Baldauf, G. Averous, E. Baulon, et al. Néoplasies intraépithéliales du col Elsevier Masson SAS 2013.
- [39] J.-L. Bruna,b ; Human papillomavirus vaccines ; 9 janvier 2008.
- [40] Jean Lacau ,St Guily ; Papillomavirus humains et tumeurs des voies aérodigestives supérieures janvier-février 2009.
- [41] Jean-Pierre VALLÉE ; La prise en charge des patientes ayant un frottis cervico-utérin anormal en médecine générale.
- [42] John F. Boggess ; Victoria Lin Bae-Jump ; Cancer du col de l’utérus.
- [43] Joseph Monsonogo. Traité des infections et pathologies génitales à papillomavirus2007.
- [44] Khenchouche abdelhalim ;Le cancer du col de l’utérus: coïnfection par le papillomavirus humain et par l'Epstein-Barr virus ; Thèse ; 30 octobre 2014.
- [45] kulasingam sl, Myers ER ; Potential health and economic impact of adding a human papillomavirus vaccine to screening programs. JAMA, 290:781-789 ; 2003.
- [46]La vaccination contre les infections HPV pour prévenir le cancer du col de l’utérus Institut national du cancer- 20/01/2017.

- [47] Laurence Olliera, Valérie Giordanengoa,b, Méthodes de détection et d'identification des HPV 2016.
- [48] Longworth MS, Laimins LA. Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev*68(2):362-372. ,2004.
- [49] Mahcene Afaf , Nouri Imene ; Etude épidémiologique du cancer du col de l'utérus dans l'Est algérien ; Thèse , 21/06/2016.
- [50] Monsonogo J. Infections à papillomavirus, état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Paris : Springer ; 2006.
- [51] Mougin C , Bernard B , lab M. Biologie des infections a papillomavirus , caractéristiques générales . *Ann Biol Clin*, 55 ;553, 63. 1997.
- [52] Mougin C, Humbley O, Gay C, Riethmuller D. et al. Papillomavirus humains, cycle cellulaire et cancer du col de l'utérus.; 29: 13-20 ; 1999.
- [53] N. Chopin, F. Beurrier, N. Carrabin, et al. Dépistage du cancer du col de l'utérus.
- [54] Nelly Rouquille ;Papillomavirus et cancers associés : données actualisées sur le dépistage, les recommandations et la prophylaxie vaccinale. Thèse : Sciences pharmaceutiques ; 2009.
- [55] Ostrow RS, Faras AJ. The molecular biology of human papillomaviruses and the pathogenesis of genital papillomas and neoplasms. *Cancer Metastasis Rev.*;6(3):383-395 1987.
- [56] Patricia Claeys ; la lutte contre le cancer du col de l'utérus Guides des pratiques essentielles Organisation mondiale de la Santé 2007.
- [57] Peigue-Laffeuille ; Vaccination anti-papillomavirus humain : réalités et perspectives réalités en gynécologie-obstétrique167 Janvier/Février 2013.
- [58] Peitsaro, P., S. Hietanen, B. Johansson, T. Lakkalaet al. Single copy heterozygote integration of HPV 33 in chromosomal band 5p14 is found in an epithelial cell clone with selective growth advantage. *Carcinogen* 23:1057-1064 2002.
- [59] Philippe descamps ; La colposcopie Exploration du col utérin Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français 2017.
- [60] Pierre BÉGUÉ , Roger Henrion, Bernard Blanc, et al. Vaccination against human papillomavirus Implementation and efficacy against cervical cancer control décembre 2007.
- [61] Pierre BÉGUÉ ; Les vaccins des papillomavirus humains Leur place dans la prévention du cancer du col utérin 2009.

- [62] R. Rouzier, S. Bendifallah, F. Huguet, et al. Tumeurs du vagin intraépithéliales et invasives 2013.
- [63] Rakotomahenina H. Épidémiologie, prévention et dépistage du cancer du col de l'utérus Elsevier Masson SAS. 2015.
- [64] Rappillard Audrey ; papillomavirus et le cancer du col de l'utérus 2010.
- [65] Rene Kizek et al. Relevance of infection with human papillomavirus: The role of the p53 tumor suppressor protein and E6/E7 zinc finger proteins (Review) international journal of oncology 43: 1754-1762, 2013.
- [66] Rifkath marie, laurence rahimy : portage des génotypes a haut risque du papillomavirus humain chez des adolescentes sexuellement actives de la ville de Ouagadougou ; Thèse ;13 mars 2014.
- [67] S. Douvier, S. Dalac ; Infections à papillomavirus Human papillomavirus Volume 1, Issue 4, Pages 235–261 ; November 2004.
- [68] S. Fouéré, C. Biver et al. Lésions cutanées et muqueuses associées aux papillomavirus humains Elsevier Masson SAS 2015.
- [69] S. Guihard ; High-risk human papilloma virus associated oropharynx squamous cells carcinomas: Clinical, biological implications and therapeutical perspectives, Pages 34–43, 2012.
- [70] Sandrine Beaudin , Marianne Naspetti et al. Les papillomavirus humains : actualisation des connaissances Dossier scientifique à destination des enseignants 2014 /2015.
- [71] Sandrine Beaudin, Christine Montixi, Marianne Naspetti, et al. Virus HPV - Cancer et immunité 2016.
- [72] Schneider A pathogenesis of genital papillomas and neoplasms. *Cancer Metastasis Rev.*;6(3):383-395. 1987.
- [73] Sébastien Hantz, Sophie Alain, François Deni-Diagnostic des infections à papillomavirus : état des lieux et perspectives Volume 13, issue 1, janvier-février 2010.
- [74] Secondy, M. Classification des papillomavirus (HPV). Revue Francophone des laboratoires 405, 23-25 2008.
- [75] Sophie Alain, Sébastien Hantz, François Denis .Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection Mt pediatrie,vol13,n1 janvier-février 2010 .

[76] Sophie Bellanger, Chye Ling Tan, Yue Zhen Xue, et al. Tumor suppressor or oncogene? A critical role of the human papillomavirus (HPV) E2 protein in cervical cancer progression 2011.

[77] Sophie Isautier ; Place de la vaccination anti papillomavirus humains dans la prévention du cancer du col de l'utérus situation a l'île de la réunion le 23 mars 2012.

[78] Torreilles lucas , cervarix et gardasil dans la prevention du cancer du col de l'utérus 2013

[79] Valérie Giordanengo ; Méthodes de détection et d'identification des HPV ; Revue francophone des laboratoires - septembre/octobre 2008 - N°405 //51.

[80] Van G. Wilson .Papillomavirus E1 Proteins: Form, Function, and Features Volume 24, Issue 3, pp 275–290 ; June 2002.

[81] Villiers EM, Hirsch-Behnam . Two newly identified human papillomavirus types (HPV 40 and 57) isolated from mucosal lesions ; Virology. Jull 1989.

[81] Villiers EM, Fauquet C, Broker T et al. Classification of papillomaviruses. Virology.;324(1):17-27. 2004.

[82] Villiers et al. Figure-4-Cervical-stratified-squamous-epithelial-cell-architecture-and-the-expression-of. 2004.

[83] Wilson VG, West M, Woytek K, Rangasamy D. Papillomavirus E1 proteins: form, function, and features. 24(3):275-90. . 2002

[84] Xavier Carcopino ; Diagnostic et prise en charge clinique des infections cervicales à HPV(90)Diagnosis and clinical management of cervical HPV infections Volume 44, Issues 7–8, , Pages 716–726, July–August 2015.

[85] Y.C. Akladios ; Néoplasies intraépithéliales du col Elsevier Masson SAS 2013.

## Sites :

[86] 123bio.net E6 et E7, protéines transformantes.

[87] [http://www.aly-abbara.com/echographie/biometrie/scores/systeme\\_bethesda.html](http://www.aly-abbara.com/echographie/biometrie/scores/systeme_bethesda.html).

[88] <http://www.caducee.net/DossierSpecialises/gyneco-obstetrique/papillomavirus.asp>.

[89] [www.cancer.ca](http://www.cancer.ca).

[90] <http://www.cancer.be/pr-vention/cancer-du-col-de-lut-rus-les-questions-fr-quentes-et-leurs-r-ponses>.

[91] [www.cervicalcanceraction.org](http://www.cervicalcanceraction.org).

- [92] <http://www.coupdepouce.com/sante-et-vitalite/guide-des-maladies/article/cancer-de-l-uterus-cancer-de-l-endometre>.
- [93] [www.e-cancer.fr](http://www.e-cancer.fr).
- [94] <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Facteurs-de-risque-et-de-protection/Agents-infectieux/Prevenir-le-cancer-du-col-de-l-uterus>
- [95] <https://www.genpathdiagnostics.com/womens-health/gencerv/#prettyPhoto>.
- [96] [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr).
- [97] <http://www.lecrips-idf.net/informer/dossier-thematique/papillomavirus-humain-cancers/mode-transmission-hpv.htm> .
- [98] <https://www.mesvaccins.net/web/vaccines>.
- [99] [http://www.oncoprof.net/Generale2000/g02\\_Prevention/Index/index\\_pr54.php](http://www.oncoprof.net/Generale2000/g02_Prevention/Index/index_pr54.php)
- [100] <http://smartfiches.fr/dermatologie/item-299-tumeurs-cancer-cutanees-epitheliales-melaniques/tumeurs-cutanees-epitheliales>.
- [101] [http://viralzone.expasy.org/5?outline=all\\_by\\_species](http://viralzone.expasy.org/5?outline=all_by_species).
- [102] <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/fr/>
- [103] <http://www.who.int/wer/2014/wer8943.pdf> 11
- [104] [http://www.eurogin.com/progin/eurogin\\_france\\_public\\_conseils.html](http://www.eurogin.com/progin/eurogin_france_public_conseils.html)

## Résumé

Le *Papillomavirus humain* (HPV) appartient à la famille des *Papillomaviridae*. C'est un virus nu, non cultivable, à capsid icosahédrique qui renferme un génome à ADN bicaténaire circulaire. La réorganisation du génome viral définit plusieurs génotypes et peut expliquer le pouvoir oncogène de HPV. La transmission est essentiellement sexuelle.

Les HPV ont un tropisme exclusif pour les cellules de l'épithélium de la peau et des muqueuses causant des lésions bénignes telles des verrues. Certains génotypes HPV sont associés au développement de lésions malignes. Le potentiel oncogène des HPV à haut risque est lié à leur capacité d'intégrer leur génome au sein à l'ADN cellulaire.

Le HPV est l'agent étiologique principal du cancer du col qui est un véritable problème de santé publique où il occupe la deuxième classe des cancers chez la femme. Les génotypes concernés sont HPV16 et 18.

Le dépistage du cancer du col de l'utérus permet de détecter des lésions précancéreuses et cancéreuses du col et la présence de l'HPV à haut risque oncogène. Il existe, par ailleurs, une vaccination préventive luttant contre les génotypes HPV 16 et 18 impliqués dans le cancer du col de l'utérus. Cette vaccination ne se substitue pas au dépistage.

**Mots clés : papillomavirus - génotypes oncogènes - cancer du col-dépistage – vaccination**

## Abstract

The Human Papillomavirus (HPV) belongs to the Papillomaviridae family. It has an icosahedral capsid which contains a circular double-stranded DNA genome. The reorganization of the viral genome defines many genotypes and can explain the oncogenic potency of HPV. The transmission is essentially direct by a sexual mode.

The Papillomaviruses have an exclusive tropism for cells of the skin's epithelium and mucous membranes causing benign lesions like warts. Some HPV are also associated with the development of malignant lesions, The oncogenic potential of HPV at high risk is closely related to their ability to integrate their genome within the cell genome.

The Human papillomavirus (HPV) is therefore the main etiological agent of cervical cancer which is a real public health problem and occupies the second class of women's cancers. The genotypes concerned are HPV16 and 18.

Cervical cancer screening can detect precancerous and cancerous lesions of the cervix and the presence of high-risk oncogenic HPV. There is also a preventive vaccination against the HPV 16 and 18 genotypes involved in cervical cancer. This vaccination is not a substitute for screening.

**Keywords : papillomavirus – oncogene genotype – cervical cancer –screening – vaccination**

## ملخص

فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) ينتمي إلى عائلة فيروسات الأورام الحليمية. وهو من الفيروسات المجردة، و الغير قابلة للاستنبات، ذو قفيصة متعددة السطوح والتي تحتوي على حمض نووي مزدوج. إن إعادة تنظيم الجينوم الفيروسي تمكن من التعرف على العديد من المورثات مما يفسر القدرة السرطانية لفيروس الورم الحليمي البشري. يتم انتقال عدوى الفيروس عن طريق الاتصال الجنسي.

فيروس الورم الحليمي له تواصل حصري مع خلايا الجلد والأغشية المخاطية مما يتسبب في أمراض حميدة مثل التآليل. كما يرتبط بعض أنواع HPV's مع تطور الأمراض الخبيثة، إن إمكانيات فيروس الورم الحليمي السرطانية المعرضة للخطر مرتبطة بشكل وثيق بقدرتها على دمج الجينوم الفيروسي في جينوم الخلية.

يعتبر فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) العامل الرئيسي المسبب لسرطان عنق الرحم والذي يشكل واحدة من أهم المشكلات الصحية العمومية أين يحتل المرتبة الثانية من السرطانات التي تستهدف الإناث الجينات المعنية هما 16 و 18.

إن اختبار فحص سرطان عنق الرحم يمكننا من الكشف عن الخلايا السرطانية و عن وجود فيروس الورم الحليمي السرطاني. علاوة على ذلك، يوجد التطعيم الوقائي للإناث الذي يوفر الحماية ضد فيروس الورم الحليمي البشري 16, 18 و المسببة لسرطان عنق الرحم. هذا التطعيم لا يحل محل اختبار الفحص.

الكلمات الرئيسية : فيروس الورم الحليمي –الجينات الورمية – سرطان عنق الرحم – الفحص - التلقيح

