



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Biologie

Option : Biologie de la cellule normale et pathologique : Cas des cancers

INTITULÉ

Epidémiologie et Intérêt de détection des papillomavirus à haut risque (HPV HR) par immunohistochimie et biologie moléculaire dans le diagnostic des lésions cancéreuses du col utérin

Présentée par M^{me} MEDLES Meriem

Soutenue le 22/11/2016

Devant le jury composé de

Président : M^r ABBOUNI Bouziane

Professeur, UDL SIDI BEL ABBES

Promoteur : M^{me} BENDAHMANE-SALMI Malika

Professeur, UDL SIDI BEL ABBES

Examinatrice : M^{me} AÏT HAMADOUCHE Nadia

Professeur, Univ. Ahmed Ben Bella-ORAN I

Examineur : M^r KHAROUBI Omar

Professeur, Univ. ORAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

A decorative flourish in red, orange, and yellow colors, resembling a stylized flower or a calligraphic element, positioned below the text.

DEDICACES

A ma chère maman

A la mémoire de mon père

A mon mari et mes enfants

A mes chers frères et sœurs

A toute ma famille

et à tous mes amis.

Meriem.

Remerciements

Nous tenons à remercier notre Dieu le tout puissant pour la réalisation de notre travail.

Nous tenons à remercier profondément notre encadreur P^r BENDAHMANE Malika pour ses directives, conseils, encadrement et la confiance qu'elle nous a accordés.

Nous tenons à remercier également le président et les membres de jury: P^r ABBouni Bouziane, P^r AIT HAMADOUCHE Nadia et P^r KHAROUBI Omar d'avoir pris le temps de jugé ce modeste travail.

Nos sincères remerciements vont à tous les enseignants du département de Biologie, ainsi que les enseignants de la faculté de Médecine.

En fin, nos remerciements vont également aux employés de l'institut Pasteur à Sidi Fredj, en particulier P^r BOUGVERMOUH le chef de laboratoire Virus et Cancer, ainsi que les médecins du service d'Anatomo-pathologie et de service de gynécologie obstétrique de CHU de Sidi-Bel-Abbès.

RESUME

Le cancer du col utérin est l'un des rares cancers humains évitables, en effet sa prévention repose sur le diagnostic précoce des lésions précancéreuses et au préalable sur l'examen cytologique du frottis cervico-vaginal or, il est prouvé que la sensibilité de ce dernier ne dépasse pas 60 %. Plus récemment, un nombre inacceptable de cancers invasifs ont été observés chez des femmes régulièrement contrôlées par frottis, d'où la nécessité de recourir à des techniques plus performantes de dépistage. Notre objectif était de déterminer les différents facteurs de risque associés à la survenue du cancer du col d'utérus d'une part, et de faire une corrélation entre la détection virale et les données cyto-histologiques en étudiant la relation entre la charge virale et le grade histologique de la lésion cancéreuse et enfin, vérifier si la détection moléculaire de ce virus pouvait contribuer à améliorer le diagnostic des lésions précancéreuses du col utérin d'autre part.

Notre travail est divisé en deux parties : la première partie concerne une étude rétrospective descriptive de 210 dossiers médicaux enregistrés entre 1998 et 2015 au niveau de service de gynécologie- obstétrique du CHU de Sidi-Bel-Abbès. La seconde partie consiste en une étude de détection de l'HPV HR par immuno-histochimie de 52 biopsies de patientes atteintes de carcinomes épidermoïdes et de dysplasies cervicales au niveau du service d'anatomopathologie de CHU de Sidi-Bel-Abbès, et la détection des HPVHR par biologie moléculaire (PCR et HCII) chez 115 femmes souffrant d'une pathologie cervicale recrutées au niveau des services de gynécologie de CHU d'Alger.

Les résultats de l'étude épidémiologique indiquent que la majorité (96%) des cas présente un carcinome épidermoïde de type invasif, dont le symptôme le plus fréquent est l'apparition de métrorragie. L'âge moyen des patientes était de $50,4 \pm 3,96$ ans et que la tranche ménopausique était la plus touchée (56%). Parmi les facteurs les plus plausibles ont été signalés, la précocité de l'activité sexuelle (91%), la multiparité (60% plus de 5 grossesses). De même d'autres facteurs pourraient être incriminés tels que le vieillissement et le niveau socio-économique bas dans presque 50% des cas.

La deuxième partie du travail montre que la recherche des HPV HR par immunohistochimie était positive dans presque 91% de carcinomes épidermoïdes et 84% des dysplasies cervicales, et la détection par PCR et le test HCII indique que 42,61% des femmes atteintes de problèmes cervicales s'avéraient positifs.

Au terme de cette étude nous constatons que l'infection à HPV est largement incriminée dans les lésions pré-cancéreuses et cancéreuses du cancer cervical par contre, l'intensité du marquage, ne présente aucune corrélation entre le grade histologique de la lésion et l'âge des patientes. Un examen cytologique combiné à un test des HPV HR augmentera la sensibilité du dépistage et donnera une protection maximale face au cancer du col utérin.

Mots clés : cancer - col utérin – Facteurs de risque - immunohistochimie – HPV HR- HCII - PCR.

SUMMARY

The cancer of the uterine collar is one of rare avoidable human cancers, indeed its prevention rests on the early diagnosis of the precancerous lesions and with the precondition on the cytological examination of the cervical smear, but it is proven that the sensitivity of this last does not exceed 60 %. More recently, an unacceptable number of invasive cancers were observed among women regularly controlled by smear, from where need for resorting to more powerful techniques of tracking. Our objective was to determine the various factors of risk associated with occurred with the cancer of the collar of uterus on the one hand, and to make a correlation between viral detection and the cyto-histological data by studying the relation between the viral load and the histological rank of the cancerous lesion, and to check if molecular detection this virus could contribute to improve the diagnosis of the precancerous lesions of the cervix on the other hand.

Our work is divided into two parts: the first part relates to a retrospective study of 210 files recorded between 1998 to 2015 on the level of service of gynecology obstetric of CHU of Sidi-Bel-Abbès. The second part consisted of the immuno-labelling of the HPV by immunohistochemistry technic of 52 biopsies coming from patients presenting of epidermoïde carcinoma and the cervical dysplasia at the level of the service of anatomopathology of CHU of Sidi-Bel-Abbès, and the detection of the HPVHR by molecular biology (PCR and HCII) among 115 women presenting a cervical pathology coming from the gynaecology department of Algiers.

The results of the epidemiologic study indicate that the majority (96%) cases present epidermoïde carcinoma of the invasive type, of which the most frequent symptom is the appearance of metrorragie. The average age of the patients was of $50,4 \pm 3,96$ years and that the menopausal section was touched (56%). Among the most plausible factors were announced, the precocity of the sexual activity (91%), the multiparity (60% more than 5 pregnancies). In the same way other factors could be accused such as ageing and the socio-economic level low in almost 50% of the cases.

The second part of work shows that the research of HPV HR by immunohistochemistry was positive in almost 91% of epidermoïdes carcinoma and 84% of the cervical dysplasia. Among the 115 affected patients, 42, 61% were found positive.

Finally, this study confirmed that the infection with HPV is largely accused in the pre-cancerous and cancerous lesions of cervical cancer on the other hand, the intensity of marking does not present any correlation with the histological rank of the lesion nor with the age of the patients. In conclusion a cytological examination combined with a test of HPV HR will increase the sensitivity of tracking and will give a maxima protection against the cancer of the cervix.

Key words: cancer – cervix - Factors of risk - immunohistochemistry - HPV HR- HCII-PCR.

يعتبر سرطان عنق الرحم من بين السرطانات النادرة التي يمكن اجتنابها، ولذلك الوقاية منه تعتمد السرطانية و بالأولوية على تشخيص الخلايا في ، أين تم أن فعالية هذا الفحص لا تتعدى 60 % . و حاليا عدد غير مقبول من السرطانات لها عند نساء تمت مراقبتهم بشكل منتظم عن طريق هذا الفحص ، مما يدعو و فعالية عن هذا المرض.

هدفنا من العمل هو المساعدة للإصابة بهذا المرض من جهة، و تبيان العلاقة بين الكشف عن الفيروس و معطيات الفحص الخلوي و النسيجي و كذا العلاقة ما بين شدة الفيروس السرطانية، الجزئي عن هذا الفيروس يساهم في تحسين تشخيص السرطانية لعنق الرحم من جهة أخرى.

ين: يخص دراسة 210 ملف مسجل في فترة ما بين 1998 2015 ية و التوليد بالمستشفى الجامعي لسيدى بلعباس هو دراسة د على الكشف عن طريق (l'immunomarquage) لفيروس HPV و هذا يخص 52 شريحة نسيج

دراسة لمجموعة من العينات مكونة من 115

الإحصائية ، بينت أن (96%) هي carcinome épidermoïde

متقدمة و من أعراضه الأكثر شيوعا النزيف الدموي. معدل العمر هو $50,4 \pm 3,96$ سن لياس هي الأكثر اصابة (56%). من بين العوامل كذلك سجلنا الزواج المبكر (91%), (60% 5) . و عوامل أخرى محتملة كالشيخوخة و المستوى المعيشي الرديء 50% . القسم الثاني من العمل بين أن البحث عن الفيروس HR HPV عن طريق (l'immunohistochimie) كان ايجابيا في 30 (90.91%) 16 (% 84.21) و من بين 115 49 (%42.61) كانت ايجابية

. HCII PCR

من خلال هذه الدراس HPV تشمل نسبة كبيرة من السرطانية لعنق الرحم، بينما لا توجد علاقة بين كثافة الفيروس و مرحلة ية و أن ربط الفحص الخلوي مع الفحص الفيروسي يزيد من فعالية الكشف و يضمن أكثر حماية ضد السرطان عنق الرحم.

HCII - HR HPV - immunohistochimie - - - :

.PCR-

LISTE DES FIGURES

	Page
Fig. 1: Incidence du cancer cervical dans le monde	05
Fig. 2: Fréquence de l'infection à HPV et des Atypies koïlocytaires selon l'âge	07
Fig. 3: Histoire naturelle du cancer du col	09
Fig. 4 : Taux d'incidence et de prévalence des infections à papilloma- virus humains à haut risque oncogène (HPV-HR) par âge en France	10
Fig. 5: Technique de prélèvement d'un frottis cervico-vaginal	18
Fig. 6: Les étapes du test Hybride Capture TM	23
Fig. 7: Modèle de la capside virale du papillomavirus	33
Fig. 8: Organisation du génome du HPV 16	34
Fig. 9: Cycle de multiplication des HPV	35
Fig. 10: Persistance, clairance et progression des infections à HPV à haut risque	38
Fig. 11: Mécanismes moléculaires de la carcinogénèse induite par les HPV à haut risque	41
Fig. 12: Réponses immunitaires à HPV	43
Fig. 13: Transformation de la protéine L1 en VLP	45
Fig. 14: Fabrication du vaccin anti HPV	46
Fig. 15: Mode d'action du vaccin anti HPV	47
Fig. 16: les deux vaccins anti HPV disponible sur le marché	48
Fig. 17: Milieu de transport (Digène HPV DNA)	56
Fig. 18: Système biotine-streptavidine anticorps primaire biotinylé	57
Fig. 19: Test Hybrid capture 2	60
Fig. 20: Amplicor HPV Detection Kit	62
Fig. 21 : Haute nettoyée avec les UV et l'eau de	64
Fig. 22 : Thermocycleur	65
Fig. 23 : Spectrophotomètre	66
Fig. 24: Distribution des cas de cancer du col utérin entre 1998-2015	69

Fig. 25 : Répartition des cas selon le type histologique	70
Fig. 26: Répartition des cas selon la tranche d'âge	72
Fig. 27: Répartition des patientes selon la situation matrimoniale	73
Fig. 28: Répartition des patientes selon l'âge de mariage	74
Fig. 29: Répartition des patientes selon la parité	75
Fig. 30: Répartition des cas selon l'utilisation de contraceptifs oraux	76
Fig. 31: Répartition des patientes selon les antécédents médicaux	77
Fig. 32: Répartition des patientes selon le niveau socio-économique	78
Fig. 33: Répartition des cas en fonction des tranches d'âge	80
Fig. 34: Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'histopathologie	81
Fig. 35: Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage des HPV hr par immunohistochimie	82
Fig. 36 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie	83
Fig. 37 : Répartition des cas dysplasies cervicales selon le grade histologique	85
Fig. 38: Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV hr	86
Fig. 39 : Répartition des cas en fonction des tranches d'âge	87
Fig. 40 : Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie	85
Fig. 41 : Répartition des cas en fonction de l'âge et de la cyto-histopathologie	88
Fig. 42 : Recherche d'HPV HR par HCII et par PCR dans 115 cas	89
Fig. 43 : Recherche d'HPV HR en fonction des résultats cyto-histopathologiques	90

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1 : Manifestations cliniques des principaux types d'HPV muqueux	32
Tableau 2 : Propriétés biologiques des protéines des HPV à haut risque et à bas risque	34
Tableau 3 : Répartition des cas selon le stade de classification FIGO	70
Tableau 4 : Signes cliniques relevés chez les patientes atteintes du cancer cervical recrutées au CHU de SBA	71
Tableau 5 : Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'histopathologie	77
Tableau 6 : Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage des HPV hr par immunohistochimie	144
Tableau 7 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage des HPV hr par immunohistochimie	144
Tableau 8 : Répartition des cas dysplasies cervicales selon le grade histologique	144
Tableau 9 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV hr	145
Tableau 10 : Répartition des cas en fonction des tranches d'âge	145
Tableau 11 : Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie	145
Tableau 12 : Répartition des cas selon l'âge et de la cyto-histopathologie	146
Tableau 13 : Recherche d'HPV hr par HCII et par PCR dans 115 cas	146
Tableau 14 : Recherche d'HPV hr en fonction des résultats cyto-histopathologiques	146
Tableau 15 : Recherche d'HPV hr dans le cas de col normal	90
Tableau 16 : Recherche d'HPV hr dans le cas de col inflammatoire	90
Tableau 17 : Recherche d'HPV hr dans le cas de condylome	90
Tableau 18 : Recherche d'HPV hr dans le cas de lésion de bas grade	91
Tableau 19 : Recherche d'HPV hr dans le cas de lésion de haut grade	91
Tableau 20 : Association des HPV aux carcinomes épidermoïdes	100

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ACE**: Antigène Carcino Embryonnaire.
- **ACIS** : Adéno-Carcinome In-Situ.
- **ADN**: Acide Désoxyribo-Nucléique.
- **CDK**: Cyclin Dependant Kinase.
- **CIN**: Cervical Intra epithelial-Neoplasia.
- **E1**: Early genes 1.
- **ELISA** : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay.
- **FCV**: Frottis Cervico-Vaginal.
- **FIGO**: Fédération Internationale de Gynécologie Obstétrique.
- **FSH** : Follicul Stimulating Hormone.
- **HIS**: Hybridation In Situ.
- **HPV**: Human Papilloma Virus.
- **HSV2**: Herpès Virus type 2.
- **HTA**: Hyper Tension Artérielle.
- **IHC**: Immuno-Histo-Chimie.
- **JPC**: Jonction Pavimento-Cylindrique.
- **LCR**: long Control Region.
- **LH**: Luteinizing Hormone.
- **ME**: Microscopie Electronique.
- **MST**: Maladie Sexuellement Transmissible.
- **OMS**: Organisation Mondiale de la Santé.
- **PC**: Positif contrôle.
- **PCR**: Polymerase Chain Reaction.
- **Rb**: Rétinoblastome.
- **RQASF**: Réseau Québécois d'Action pour la Santé des Femmes.
- **RSY**: Région de détermination de Sexe sur le chromosome Y.
- **SCC**: Squamous Cell Carcinoma.
- **SIL**: Squamous Intraepithelial Lesion.
- **UICC**: Union International Contre le Cancer.
- **VIH**: Virus de l'Immunodéficience Humaine.
- **VLP**: Virus-Like Particles.

SOMMAIRE

- INTRODUCTION	Page 1
----------------	-----------

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : EPIDÉMIOLOGIE ET DIAGNOSTIQUE DES LÉSIONS CERVICALES

1. Données épidémiologiques	5
1. 1. Le cancer du col dans le monde	5
1. 2. Le cancer du col en Algérie	6
1. 3. Les infections à HPV	6
2. Histoire naturelle du cancer du col	8
2. 1. Élimination spontanée	8
2. 2. Évolution possible vers un cancer	8
3. Facteurs de risque	9
3. 1. Âge	10
3. 2. Tabagisme	11
3. 3. Contraception orale	11
3. 4. Multiparité	12
3. 5. Statut immunitaire	12
3. 6. Coinfection à d'autres maladies sexuellement transmissibles	13
3. 7. Prédisposition génétique	13
3. 8. Nutrition	14
4. Lésions malpighiennes	14
4. 1. Condylome cervical	14
4. 2. Lésions précancéreuses du col	14
4. 3. Carcinome microinvasif	15
4. 4. Carcinome épidermoïde infiltrant	16
4. 4. 1. Carcinome kératinisant avec globes cornés	16
4. 4. 2. Carcinome non kératinisant à grandes cellules	16
4. 4. 3. Carcinome non kératinisant à petites cellules	16
5. Lésions glandulaires	17
5. 1. Adénocarcinome in situ	17
5. 2. Adénocarcinome infiltrant	17
6. Tumeurs secondaires	17
7. Dépistage cytologique du cancer du col utérin	18
8. Dépistage histologique	19
9. La colposcopie	20
10. Marqueurs biologiques	20
11. Test HPV et le dépistage du cancer du col utérin	21
11. 1. Microscopie électronique (ME)	21

11. 2. Test à l'immunopéroxydase (TIP)	21
11. 3. Techniques de biologie moléculaire	21
11. 3. 1. Techniques d'hybridation moléculaire	22
11. 3. 2. Les techniques d'amplification	23
12. Immunomarquage moléculaire : P16	24
13. Traitement des lésions génitales	24
13. 1. Cancer du col au stade 0	25
13. 2. Cancer envahissant du col	26
13. 2. 1. Stade IA et stade IA1	27
13. 2. 2. Stades IA2, IB et IIA	27
13. 2. 3. Stade IIB	27
13. 2. 4. Stade III	27
13. 2. 5. Stade IV	27
12. 3. Cancer du col récidivant	28
14. Suivi	28

CHAPITRE II : BIOLOGIE ET IMMUNOLOGIE DES INFECTIONS À HPV

1. Infections virales à HPV	30
2. Famille des papillomavirus	31
3. Classification des papillomavirus	31
4. Organisation structurale et génomique	32
5. Cycle de multiplication virale	35
5. 1. Entrée cellulaire	36
5. 2. Réplication de l'ADN viral	36
5. 3. Clairance et latence de l'infection	38
6. Intégration des papillomavirus et carcinogénèse	39
7. Réponses immunitaire anti-HPV	41
8. HPV et la vaccination	43
8. 1. Histoire de la vaccination à HPV	44
8. 2. Fabrication des VLP (pseudo particules virales)	45
8. 3. Mécanisme d'action du vaccin	46
8. 4. Les vaccins antipapillomavirus présents sur le marché	47
8. 5. Effets indésirables et surveillance	49
8. 6. Vaccination des garçons	49

ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

<i>Partie I : Épidémiologie du cancer du col utérin</i>	53
I. 1. Type d'étude	53
I. 2. Population cible	53
I. 3. Objectif	53

1. 4. Limite d'étude	54
1. 5. Supports de données	54
1. 6. Analyse des données	54

Partie II : Détection des HPV HR par immuno-histochimie et biologie moléculaire (HC II et PCR) 55

II. 1. Prélèvements	55
II. 2. Méthodes	56
II. 2. 1. Technique Immuno-histochimie	56
II. 2. 2. Test Hybrid capture 2 (HC2)	59
II. 3. 3. Amplicor HPV test (PCR)	62

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

Partie I : Épidémiologie du cancer du col utérin 68

I. 1. Distribution des cas de cancer du col utérin entre 1998-2015	69
I. 2. Répartition des cas selon le type et le stade histologique	70
I. 3. Les motifs de consultations	71
I. 4. Répartition des cas selon la tranche d'âge	72
I. 5. Situation matrimoniale	73
I. 6. L'âge de mariage	73
I. 7. La parité	74
I. 8. L'utilisation de contraception hormonale	75
I. 9. Les antécédents médicaux (ATCM)	76
I. 10. Les facteurs génétiques	77
I. 11. Niveau socio-économique	78

Partie II : Détection des HPV HR par immuno-histochimie et biologie moléculaire (HC II et PCR) 79

II. Résultats de l'immuno-marquage de l'HPV	80
II. 1. Répartition des cas en fonction des tranches d'âge	80
II. 2. Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'examen histopathologique	81
II. 3. Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage	81
II. 4. Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage	82
Planche I : Immuno-marquage des HPV hr fortement positif	84
II. 5. Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique	85
II. 6. Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV hr	85
III. Résultats de test HC2 et de la PCR	86
III. 1. Répartition des cas en fonction des tranches d'âge	86

III. 2. Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie	87
III. 3. Répartition des cas selon l'âge et de la cyto-histopathologie	88
III. 4. Recherche des HPV à haut risque (HPV hr) par les deux techniques de biologie moléculaire HCII et PCR	89
III. 4. 1. Recherche d'HPV hr dans les 115 cas étudiés	89
III. 4. 2. Recherche d'HPV hr en fonction des résultats cyto-histopathologiques	89
III. 4. 3. Recherche d'HPV hr dans le cas de col normal	90
III. 4. 4. Recherche d'HPV hr dans le cas de col inflammatoire	91
III. 4. 5. Recherche d'HPV hr dans le cas de condylome	91
III. 4. 6. Recherche d'HPV hr dans le cas de lésion de bas grade	91
III. 4. 7. Recherche d'HPV hr dans le cas de lésion de haut grade	92
IV. DISCUSSION GENERALE	93
CONCLUSION & RECOMMANDATIONS	110
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	114
ANNEXES	127

INTRODUCTION

A L'échelle mondiale le cancer du col utérin constitue un véritable problème de santé publique avec 493 000 nouveaux cas et 200 000 décès identifiés par année (Ferlay *et al.*, 2004).

En Algérie, le cancer du col de l'utérus est la 2^{ème} cause de mortalité par cancer chez la femme après celui du sein, avec 1391 décès par an (Belkacem, 2006).

L'infection persistante à papillomavirus humains oncogènes dits à haut risque (HPV HR) constitue le risque majeur de développer un cancer du col utérin. Cependant, l'infection à HPV est relativement fréquente dans la population générale, Winer et d'autres chercheurs en 2005 estiment qu'environ sept femmes sur dix ont été exposées au moins une fois durant leur vie aux HPV et que sans intervention, une femme sur cinq exposées aux HPV peut développer un cancer du col. L'exposition à ce virus se fait par contact sexuel souvent lors des premiers rapports. D'autres facteurs de risque peuvent intervenir tels que la précocité des rapports sexuels, la multiplicité des partenaires sexuels, l'hygiène, la multiparité, les lésions condylomateuses, les antécédents de dysplasies, la contraception, le tabagisme et le niveau socio-économique des femmes (Douvier, 2010).

Le cancer cervical peut se développer graduellement sur une période de plusieurs années. Il se manifeste initialement sous forme de dysplasie cervicale, une infection précancéreuse caractérisée par des modifications anormales des cellules de l'épiderme du col. Si la dysplasie cervicale n'est pas détectée et traitée de façon efficace elle peut évoluer en cancer (Michel et Castaigne, 1995).

Le cancer du col utérin est l'un des rares cancers humains évitables. En effet, sa prévention repose sur le diagnostic précoce des lésions bénignes ou précancéreuses dont le traitement rend en principe impossible le développement d'un cancer (Monsonégo, 2006).

Le dépistage du cancer du col utérin, ainsi que des néoplasies cervicales repose au préalable sur l'examen cytologique du frottis cervico-vaginal. Or, il est prouvé que la sensibilité de ce dernier ne dépasse pas 60 % (Fahey *et al.* 1995).

Plus récemment, un nombre inacceptable de cancers invasifs ont été observés chez des femmes régulièrement contrôlées par frottis (Monsonogo, 2002). D'où la nécessité de recourir à des techniques plus performantes de dépistage, plus sensible tel que HC2 (l'hybrid Capture 2) et la PCR (Polymerase Chain Reaction).

L'origine virale du cancer du col de l'utérus ouvre la possibilité d'envisager une vaccination. Les résultats préliminaires sur le vaccin prophylactique sont très encourageants. La possibilité de prévenir le cancer du col utérin grâce à la vaccination pourrait devenir une réalité dans un futur proche et avec une couverture vaccinale de 100 %, il pourrait théoriquement prévenir un peu plus de 70 % des cancers du col utérin qui ne sont actuellement pas évités par le dépistage cytologique (Lowndes et Gill, 2005).

La recherche de l'agent causal a été à la base du succès de lutte contre la plus part des maladies infectieuses. Les études épidémiologiques sur l'infection à HPV ont établi le rôle de ces virus dans la genèse des néoplasies cervicales intra-épithéliales et du cancer du col et que la densité de la charge virale en milieu liquide est fortement liée au grade histologique de la lésion. Ces données prouvent aussi la valeur potentielle du test HPV dans le domaine clinique. Notre objectif est de déterminer les différents facteurs de risque associés à la survenue du cancer du col de l'utérus d'une part, et d'autre part, confirmer l'implication de l'HPV dans ces pathologies en vérifiant sa présence par immunohistochimie et biologie moléculaire, et montrer s'il existe une corrélation entre l'âge, la charge virale et le grade histologique des lésions cervicales.

Etude

Bibliographique

CHAPITRE I

Epidémiologie Et Diagnostic Des Lésions Cervicales

1. Données épidémiologiques

1. 1. Le cancer du col dans le monde

L'importance majeure des infections à HPV tient essentiellement à l'ampleur du problème médical et social que représente le cancer du col de l'utérus : le cancer du col est la deuxième cause de cancers féminins dans le monde et représente environ 10 % de la totalité des cancers. En 2002, on estimait à 493 000 le nombre de cancers invasifs, 83 % de ces cancers sont observés dans les pays en voie de développement (Council of the European Union, 2003). Les zones à risque pour le cancer du col sont situées en Afrique du Sud et de l'Est, les caraïbes et l'Amérique centrale où l'incidence moyenne est supérieure à 30 pour 100 000 femmes par an (figure 1) (Monsonogo, 2007). Chaque année on estime à 273 000 les décès induits dont trois quarts sont enregistrés dans les pays en voie de développement (Ferlay *et al.*, 2004).

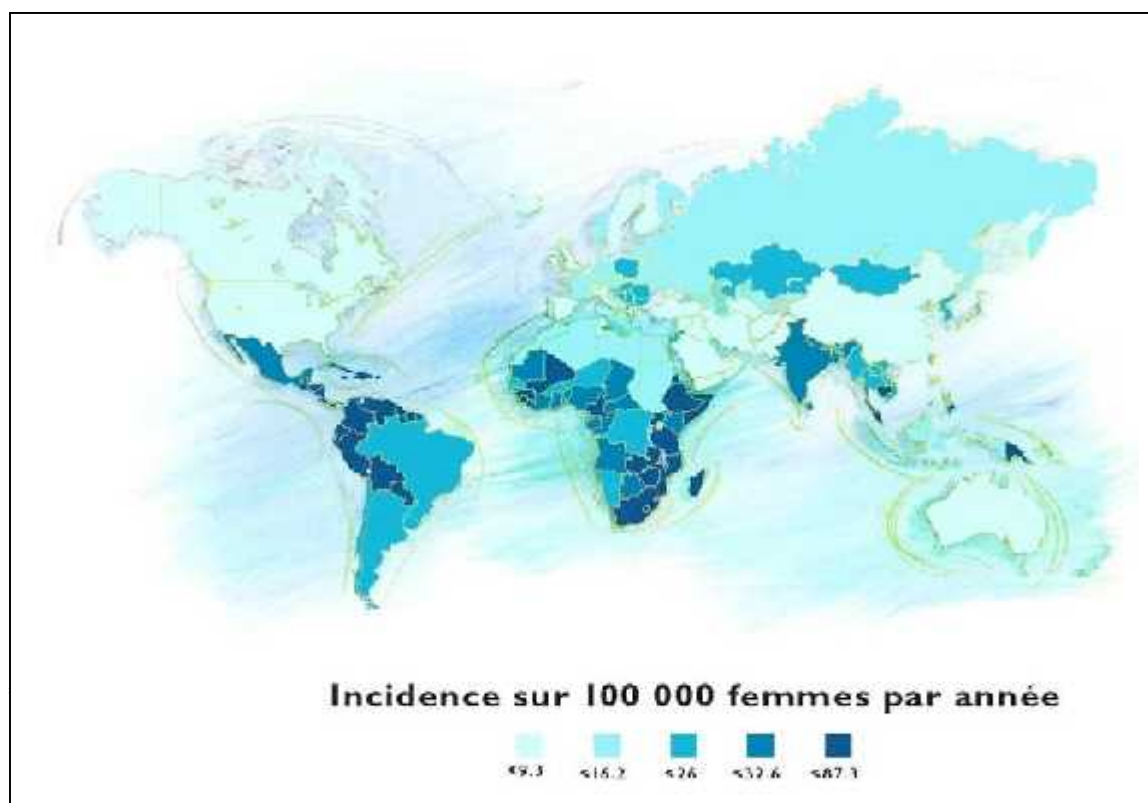


Fig. 1 : Incidence du cancer cervical dans le monde (Monsonogo, 2007)

En France, avec 2820 cas et 940 décès estimés pour l'année 2010, le cancer du col de l'utérus se situe au douzième rang des cancers chez la femme par sa fréquence et au quinzième rang par sa mortalité (Institut de Veille Sanitaire ; 2010).

1. 2. Le cancer du col en Algérie

En l'absence d'enregistrements systématiques basés sur des données épidémiologiques, le cancer du col utérin a été longtemps considéré comme le premier cancer féminin en Algérie.

La première étude sur la morbidité cancéreuse a été faite en Algérie par Yaker et Dekkar ; c'est une étude rétrospective réalisée sur 10 ans, allant de 1966 à 1975. Elle a permis de recenser 19 824 tumeurs malignes primitives diagnostiquées histologiquement entre le 1^{er} Janvier 1966 et le 31 December 1975 dans les laboratoires d'anatomie pathologique d'Alger, d'Oran et de Constantine qui étaient les seuls laboratoires d'anatomopathologie existant à cette époque, cette enquête a porté sur 9867 cas de cancers masculins (49,8 % des cas) et 9957 cas de cancers féminins (50,2 % des cas). Le cancer du col de l'utérus été identifié comme le premier cancer féminin avec 3002 cas, suivi des cancers de la peau autres que les mélanomes (2449 cas) et des cancers du sein (1147 cas).

Dix registres du cancer ont été progressivement mis en place en Algérie depuis 1986. Ils couvrent une population moyenne de 10 millions de personnes sur 31 millions d'habitants. Ceux d'entre eux qui publient des rapports annuels identifient le cancer du col utérin comme la deuxième localisation féminine après celle du sein (Hamid-Chérif et Sekfali, 1994) (Hammouda *et al.*, 2002) (Mokhtari *et al.*, 2002).

1. 3. Les infections à HPV

Parmi les génotypes d'HPV (près de 120), une vingtaine présente un tropisme génital. Parmi eux, on distingue les HPV dits à « haut risque » (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56 et 58) et les HPV dits à « bas risque » (HPV 6, 11, 42, 43 et 44). La distribution de ces types varie avec la géographie mondiale. Sur une série de cancers invasifs provenant de 22 pays (Amérique, Europe, Afrique et

Asie, la prévalence de l'HPV 16 est prédominante (50-60 %), suivie de celle de l'HPV 18 (10-12 %), de 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 et 18. en Asie de Sud-Est , les HPV 18 sont présents avec une fréquence élevée de 32 % (Munoz *et al.*, 2004).

L'infection génitale à HPV est l'une des infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes. L'exposition aux HPV se produit le plus souvent chez la femme jeune, peu après le début de son activité sexuelle. Le taux d'infection à HPV chez la femme jeune se situe entre 19 à 49 %. La prévalence de l'infection est fonction de l'âge: le pic de prévalence se situe entre 20 et 25 ans ; cette prévalence diminue ensuite très sensiblement (Figure 2) (Richardson *et al.*, 2003).

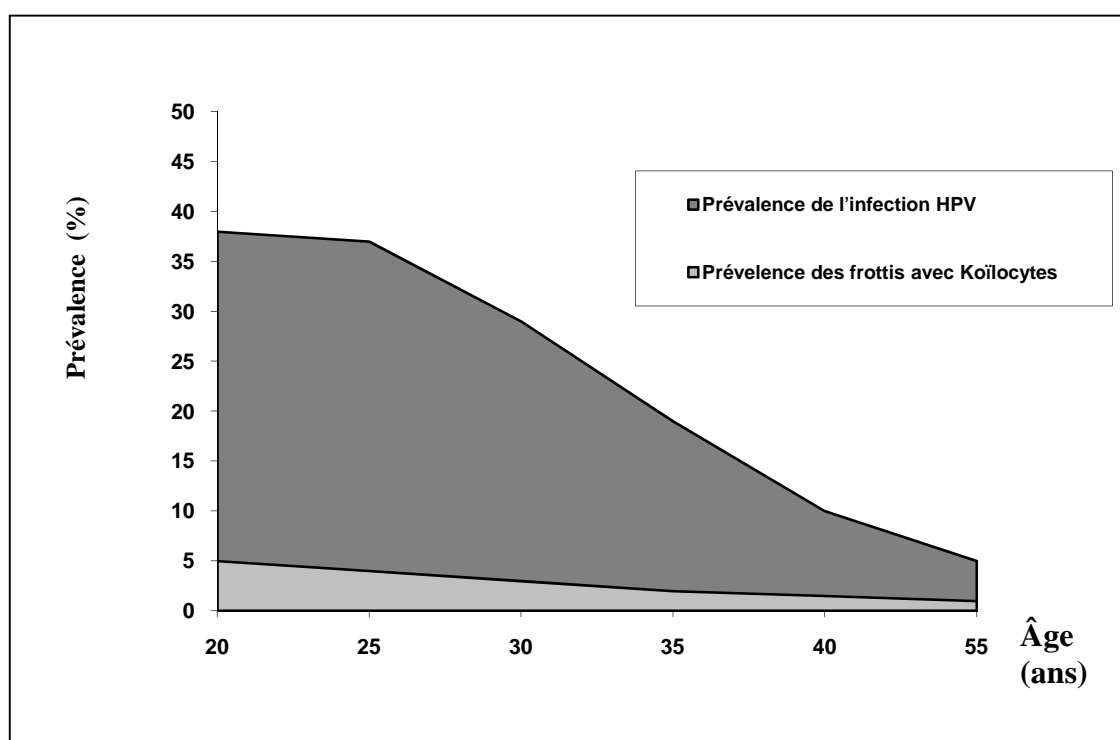


Fig. 2 : Fréquence de l'infection à HPV et des Atypies koilocytaires selon l'âge (Richardson *et al.*, 2003).

2. Histoire naturelle du cancer du col

Le lien de causalité entre le cancer du col de l'utérus et le virus HPV est à présent bien reconnu. Le virus HPV est généralement transmis par contact cutanéomuqueux de la sphère génitale (Mcintoch, 2000).

La plupart des infections à HPV sont infracliniques et transitoires, Seul un très faible pourcentage de ces infections génitales à HPV va aboutir à des lésions malignes (Riethmuller *et al.*, 2002).

2. 1. Élimination spontanée

Compte tenu du mode de transmission du virus, le préservatif ne protège pas complètement contre les infections à HPV. La plus part des femmes vont être infectées par un HPV à haut risque à un moment donné de leur vie mais toutes ne vont pas développer des modifications cellulaires anormales. En effet, la majorité (plus de 80%) des infections à HPV sont transitoires, asymptomatiques et guérissent spontanément (Giuliano *et al.*, 2002).

Les lésions précancéreuses peuvent persister pendant plusieurs années, mais peuvent aussi régresser pour donner des formes subcliniques, voire des formes latentes. La charge virale diminue progressivement et de façon linéaire de la forme clinique à la forme subclinique puis latente. Les lésions subcliniques et latentes, plus difficiles à détecter, sont probablement les plus courantes. Les lésions de bas grade incluant les condylomes plans et les CIN 1 et les lésions indéterminées ou ASCUS seraient les plus communes. Ces lésions apparaissent en général un à deux ans après le début de l'infection (Riethmuller *et al.*, 2002).

2. 2. Évolution possible vers un cancer

Le cancer du col utérin peut survenir si l'infection par un HPV à haut risque devient persistante. Les facteurs suivants sont également associés au développement du cancer du col chez la femme infectée par un type à haut risque de HPV : l'âge précoce du début des relations sexuelles, un nombre de grossesses élevé, le tabagisme, l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux et des antécédents d'infections sexuellement transmissibles (Chlamydia, Herpes simplex

de type 2, HIV). Ces cofacteurs accroissent le risque de cancer cervical d'un facteur variant de deux à quatre (Franco *et al.*, 2001) (Hildesheim *et al.*, 2001).

Le cancer du col utérin se développe lentement. Il apparaît généralement 10 à 15 ans après l'infection initiale par le HPV et seulement si l'infection persiste au cours de cette période de temps. Depuis le début de l'infection par le HPV et jusqu'à l'apparition du cancer, les cellules du col passent par plusieurs stades qui peuvent être identifiés grâce à la présence des cellules anormales dans un frottis. Cependant, ce processus peut régresser si le système immunitaire élimine le virus (Figure 3) (Riethmuller, 2007). Dans ce cas, des frottis réalisés régulièrement par le gynécologue permettent d'observer la disparition des anomalies (Michel et Castaigne, 1995).

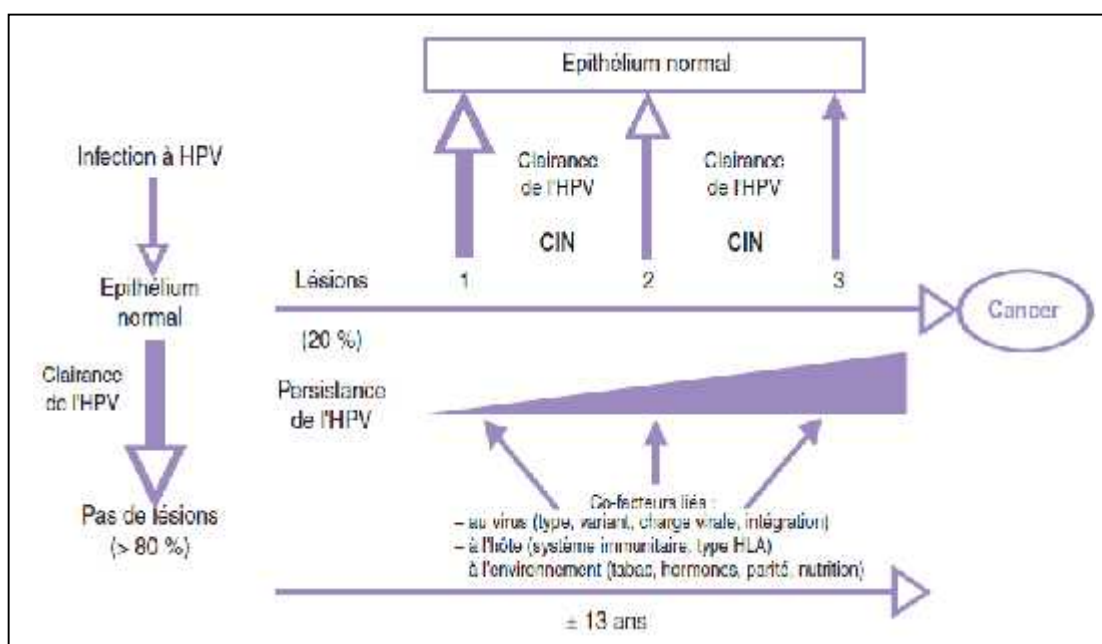


Fig. 3 : Histoire naturelle du cancer du col (Riethmuller, 2007)

3. Facteurs de risque

Si l'infection persistante par des HPV à haut risque constitue le principal facteur de risque de développer un cancer du col de l'utérus, d'autres facteurs liés à l'hôte ou à l'environnement pourraient influencer le risque de progression d'une

infection à HPV vers la malignité. Ces facteurs agissent en favorisant la persistance de l'infection ou comme cofacteurs de la carcinogénèse.

3. 1. Âge

L'âge des patientes modifie de façon évidente la durée du portage. Les patientes âgées de plus de 50 ans éprouvent plus de difficultés à éliminer les infections à HPV. Ainsi, la proportion de patientes négatives après une période de 3 ans passe ainsi de 85 % à l'âge de 21 ans à 74 % à 51 ans. Cette persistance plus fréquente chez les patientes âgées paraît être la conséquence de l'immunosénescence due à l'âge, la diminution des capacités immunitaires favorisant la persistance de l'infection (Rappillard, 2010).

Alors que l'acquisition de nouvelles infections par HPV est plus fréquente chez les femmes jeunes, celles-ci parviennent donc plus rapidement et plus souvent à les éliminer. La figure 4 décrit un pic d'incidence de l'infection à HPV autour de l'âge de 22 ans et concerne environ 12 % des femmes à cet âge (Detournay *et al.*, 2009).

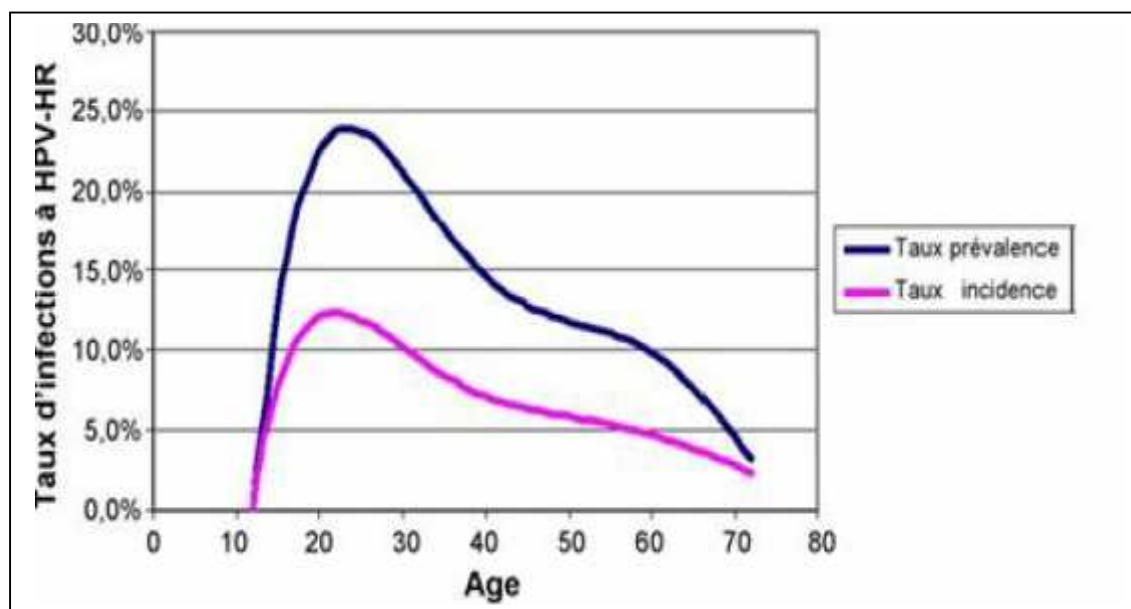


Fig. 4 : Taux d'incidence et de prévalence des infections à papillomavirus humains à haut risque oncogène (HPV-HR) par âge en France (Detournay *et al.*, 2009)

3. 2. Tabagisme

Une méta-analyse a montré que les fumeuses étaient significativement plus à risque de développer un cancer du col malpighien avec un risque relatif de 1,6 en comparaison avec les femmes n'ayant jamais fumé. Par contre selon cette étude il n'y pas de relation entre adénocarcinome et tabagisme (Douvier, 2010).

Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) le risque relatif (mesurant le risque de survenue d'un événement entre deux groupes, le groupe exposé et le groupe non exposé = pourcentage de fumeurs ayant un cancer du col sur le pourcentage de non fumeurs ayant un cancer du col) est de 1.83 et la fraction de cancers du col attribuable au tabagisme est de 23% en France pour l'année 2006 (IARC Working Group, 2007) et (Institut National du Cancer, 2010).

La plupart des études prenant en compte la dose, la durée ou le nombre de paquets par années mettent en évidence une augmentation du risque quand l'exposition augmente. Ce phénomène serait dû à l'accumulation de nicotine et carcinogènes dans la glaire cervicale agissant comme cofacteurs des HPV, ou pouvant avoir un effet immunosuppresseur (Park, 1997). En effet, la diminution des cellules de Langerhans chez les patientes fumeuses montre l'action immunosuppressive de la nicotine et de ses dérivés.

3. 3. Contraception orale

Une synthèse de 26 études réunissant au total plus de 12500 femmes atteintes d'un cancer du col de l'utérus montre une augmentation du risque de cancer invasif chez les femmes prenant ou ayant pris des contraceptifs oraux. Ce risque augmente avec la durée d'utilisation ; l'augmentation du risque est de 10% pour une utilisation de moins de 5 ans, de 60% pour une utilisation de 5 à 9 ans, et de 100% (doublement du risque) pour une utilisation de plus de 10 ans (Schlegel, 1990).

D'après une autre étude, l'augmentation du risque est plus importante chez les femmes en cours de traitement contraceptif, et diminue après utilisation pour redevenir, 10 ans après, identique au risque des femmes n'en ayant jamais pris (Segondy, 2008).

3. 4. Multiparité

Le nombre de grossesses élevé a été trouvé associé à un risque augmenté de cancer du col dans la plupart des études. Dans une analyse réalisée par le CIRC, le risque est quatre fois plus élevé chez les femmes ayant mené sept grossesses à terme que chez les nullipares et le risque augmente linéairement avec le nombre de grossesses (Munoz *et al.*, 2002).

Une autre étude démontre aussi l'importance de l'âge à la première grossesse. Ainsi plus la grossesse a lieu à un âge jeune, plus le risque est élevé (International Collaboration of Epidemiological studies of Cervical Cancer, 2006).

Des facteurs hormonaux liés à la grossesse ou le traumatisme cervical lié à l'accouchement pourraient être des causes possibles (ACCP, 2009).

3. 5. Statut immunitaire

L'immunodéficience, qu'elle soit innée (déficits congénitaux) ou acquise (VIH, traitement anti rejet de greffe), est impliquée dans l'évolution maligne de l'infection à HPV. Selon les études, le risque de cancer du col chez les patients VIH positifs est environ dix fois plus élevé que dans la population générale (Dal Maso *et al.*, 2001) et (Bonnet et Morlat, 2006).

En effet, la baisse des défenses immunitaires induite par le VIH augmente le risque d'infection par HPV et est responsable d'un mauvais contrôle de cette infection, rendant la progression de la maladie beaucoup plus rapide. On remarque donc des cancers du col chez des femmes plus jeunes. Outre le fait que la prévalence de l'infection à HPV soit plus élevée chez les femmes infectées par le VIH, on observe aussi que ces femmes ont un risque accru d'être infectées par un type oncogène plutôt qu'un autre type, que la co-infection par plusieurs types oncogènes est fréquente et que des types dits non oncogènes dans la population générale deviennent oncogènes chez ces patientes immunodéprimées (Berrébi *et al.*, 2008).

En 2000, les affections cancéreuses étaient à l'origine de 28% des décès recensés chez les sujets VIH+ et les décès par cancer du col représentaient 1% des ces affections (Bonnet et Morlat, 2006).

L'infection à HIV représente aussi un facteur de risque non négligeable de développer d'autres affections malignes, tels que cancers de la vulve, de l'anus ou du pénis dus aux HPV. Les patientes séropositives ont donc plus de lésions cervicales à HPV, plus de lésions sévères, plus de lésions persistantes ou qui s'aggravent et plus de récurrences après traitement (Berrébi *et al.*, 2008).

Un suivi particulier est donc nécessaire pour ces personnes séropositives au VIH et on leur recommande un examen gynécologique complet annuel avec frottis cervical et colposcopie (Rappillard, 2010).

3. 6. Coinfection à d'autres maladies sexuellement transmissibles

Une enquête cas-témoin a montré que chez des femmes HPV positives, la présence d'anticorps contre les *Chlamydiae* était associée à un risque de cancer du col de l'utérus deux fois plus important que chez les femmes n'ayant pas ces anticorps (Smith et Munoz, 2002).

Une autre enquête a montré qu'une infection par un virus *herpès simplex* de type 2 était aussi un cofacteur de l'infection à HPV et augmentait le risque de cancer cervical invasif. En effet, parmi les femmes HPV positives, le risque de développer un cancer du col utérin est multiplié par trois chez les femmes porteuses du virus *herpès simplex* de type 2 (Smith et Herrero, 2002).

3. 7. Prédilection génétique

La prédisposition génétique pourrait être un cofacteur important, comme dans la plupart des cancers mais, elle n'intervient probablement que dans une faible proportion de cancers du col de l'utérus. Les gènes HLA ont été étudiés et il a été démontré que certains gènes HLA auraient un effet protecteur alors que d'autres seraient des facteurs de risque de malignité.

Des études portant sur les familles suggèrent également que le fait d'avoir une mère ou une sœur atteinte d'un cancer du col de l'utérus augmente le risque (Denis *et al.*, 2008).

3. 8. Nutrition

Actuellement, aucune étude sur ce sujet n'est réellement convaincante mais, la consommation élevée de légumes, d'acide folique, de vitamine A et d'antioxydants serait associée à un effet protecteur possible contre les néoplasies cervicales (Garcia-Closas *et al.*, 2005)

4. Lésions malpighiennes

4.1. Condylome cervical

Le condylome du col utérin est dû à un papovirus à ADN, du groupe des papillomes humains ; il est transmis par contact sexuel et par contamination. Sur le plan microscopique ; les couches basales et parabasales restent habituellement normales. Les autres assises cellulaires montrent des cellules ballonnées (koilocytose), à noyau hyperchromatique, généralement dépourvu de nucléole. Le noyau est entouré d'un espace clair, autour duquel le cytoplasme, condensé, contient parfois de la kératine. Les mitoses peuvent être nombreuses et les cellules possèdent parfois deux ou plusieurs noyaux. Il n'y a pas d'inclusion virale dans le condylome (Cabane et Bonenfant, 1980).

4. 2. Lésions précancéreuses du col

Diverses classifications histologiques des lésions précancéreuses du col ont été proposées depuis cinquante ans. Initialement, quatre groupes lésionnels ont été retenus : la dysplasie légère, modérée sévère et le carcinome *in situ* (Reagan *et al.*, 1953). Ultérieurement Richart (1973) a introduit le terme de néoplasie cervicale intraépithéliale (CIN) réduisant ces lésions à trois grades de 1 à 3 en fonction de leur sévérité. La dysplasie légère correspond à CIN 1 et la dysplasie modérée à la CIN 2. La dysplasie sévère et le carcinome *in situ* ne constituent qu'une seule entité, la CIN 3. La classification cytologique de Bethesda (1988) propose quant à elle, deux groupes pathologiques : la lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade (regroupant infection à HPV et CIN 1) et la lésion malpighienne

intraépithéliale de haut grade, correspondant à la CIN 2 et à la CIN 3 (voir Annexe 2 et Annexe 3).

Les lésions dysplasiques se caractérisent par une désorganisation de l'architecture de l'épithélium malpighien avec perte de la maturation et de la stratification habituelle, des atypies cytonucléaires et des mitoses. La membrane basale de l'épithélium est toujours respectée.

- **CIN 1 ou dysplasie légère** : modifications ne dépassant pas le 1/3 inférieur de l'épithélium ;
- **CIN 2 ou dysplasie modérée** : modifications ne dépassant pas le 1/3 moyen de l'épithélium ;
- **CIN 3 ou dysplasie sévère** : modifications atteignant toute la hauteur de l'épithélium (Mourits *et al.*, 1992).

4. 3. Carcinome microinvasif

L'étape ultérieure correspond à la microinvasion. Au sein de la lésion intraépithéliale est apparu un clone cellulaire plus agressif qui vient rompre la membrane basale séparant habituellement le revêtement épithélial du conjonctif. Cette « *early stromal invasion* » est généralement mieux différenciée que la CIN 3 dont elle provient, ce qui permet son identification.

Selon la définition actuelle de la Fédération Internationale de Gynécologie Obstétrique (FIGO) (voir Annexe 12 et Annexe13), le carcinome micro-invasif de stade IA1 inclut les lésions de profondeur comprise entre 0 et 3 mm et dont la largeur ne dépasse pas 7 mm. Le stade IA2 correspond à un envahissement de 3 à 5 mm de profondeur et limité à 7 mm de largeur. Ces éléments conditionnent le risque de métastase ganglionnaire. En cas de profondeur inférieur ou égale à 3 mm, le risque est inférieur à 1 %. Si la micro-invasion se situe entre 3 et 5 mm, le risque est de 2 % (Ostor, 1995).

4. 4. Carcinome épidermoïde infiltrant

Ils constituent la grande majorité des tumeurs malignes du col utérin (90 %). Il est défini par la présence de massifs ou de travées confluentes et anastomosées, disposés au sein d'un stroma fibreux ou inflammatoire. Les cellules tumorales souvent de taille moyenne, à cytoplasme assez abondant, ont des membranes cytoplasmiques généralement bien visibles. Leur noyau est d'aspect variable à contours réguliers ou irréguliers, monomorphe ou avec anisocariose. La chromatine est dense (hyperchromatisme) ou répartie en amas irréguliers. Les nucléoles sont proéminents et on peut trouver des foyers de nécrose (Stock *et al.*, 1994) (Yuan *et al.*, 1998).

En fonction de la maturation de la cornée, et de la taille des cellules néoplasiques, l'OMS propose trois principaux types de carcinomes épidermoïdes dont la structure serait liée au pronostic. Par ordre de gravité croissante, on distingue :

4. 4. 1. Carcinome kératinisant avec globes cornés

Il comporte de nombreuses cellules parakératosiques au noyau relativement gros et de formes bizarres (cellule fibre, têtard), granulations intracytoplasmiques, noyau hyperchromatique ;

4. 4. 2. Carcinome non kératinisant à grandes cellules

C'est une forme très fréquente, identique à la précédente mais sans maturation cornée. De nombreuses cellules tumorales sont présentes, elles sont de taille très variée, les formes nucléaires sont souvent très anormales, le rapport nucléole/noyau est très élevé et le cytoplasme peut être abondant et mal défini, voire absent ;

4. 4. 3. Carcinome non kératinisant à petites cellules

L'étalement est caractérisé par des petites cellules avec un petit noyau à chromatine épaissie, de formes anormales des noyaux (indentations, bombement) pouvant être oblongs et fins. Pour les caractères nucléaires, la chromatine est fragmentée en morceaux anguleux, tranchant avec une répartition plus ou moins

régulière et une membrane nucléaire intacte, le rapport nucléo-cytoplasmique peut être élevé (Abeler *et al.*, 1994).

5. Lésions glandulaires

Les adénocarcinomes infiltrants du col, dont la fréquence est en augmentation, représentent 10 % des cancers cervicales. L'infection à HPV est singulièrement l'HPV 18 sont incriminés dans sa genèse (Riethdorf *et al.*, 2000). Ils s'observent volontiers chez la femme jeune et sont diagnostiqués en général tardivement, au stade d'invasion. L'adénocarcinome *in situ* est considéré comme la lésion précurseur.

5. 1. Adénocarcinome in situ

Le revêtement épithélial cylindrique endocervical et les glandes endocervicales, normalement bordées par un épithélium cylindrique bien différencié et mucosécrétant, deviennent limités par un épithélium pluristratifié, constitué de cellules à noyau hyperchromatique avec des images de mitoses. Il concerne généralement la zone de transformation et s'étend le long du canal endocervical sur une longueur de 1 à 1,5 cm pouvant atteindre jusqu'à 3 cm (Shipman et Bristow, 2001).

5. 2. Adénocarcinome infiltrant

Dans l'adénocarcinome infiltrant, le caractère invasif de la prolifération glandulaire se traduit par des modifications architecturales. Le tissu conjonctif situé entre les glandes disparaît, elles deviennent juxtaposées et constituent des massifs creusés de cavités glandulaires, réalisant des images dites cribriformes ou polyadénoïdes (Hanselaar *et al.*, 1997).

6. Tumeurs secondaires

Elles sont rares mais plus fréquentes que les adénocarcinomes primitifs. Les unes proviennent de cancers éloignés, tels que ceux du sein, du rein ou de l'estomac; elles posent des problèmes difficiles d'identification. Les autres

correspondent à des propagations de voisinage, à partir de carcinomes endométriaux, tubaires, ovariens ou recto-sigmoïdiens (Cabanne et Bonenfant, 1980).

7. Dépistage cytologique du cancer du col utérin

Le dépistage du cancer du col est, en théorie, un des plus efficaces puisqu'il permet de détecter des lésions précancéreuses et d'éviter la survenue du cancer. Une fois le processus de cancérisation enclenché, il permet de détecter des lésions in situ, c'est-à-dire à un stade où 100% des malades peuvent être guéries (Thomas, 2001).

Le dépistage cytologique est basé sur la pratique régulière et systématique de frottis cervico-vaginal tous les trois ans dès la période d'activité sexuelle et jusqu'à 65 ans. C'est un examen simple non douloureux ayant pour but de recueillir des cellules au niveau de cul de sac vaginal postérieur, de l'exocol et de l'endocol pour détecter des anomalies cellulaires à travers une observation microscopique des étalements (Figure 5) (Decaussin-Petrucci, 2006).

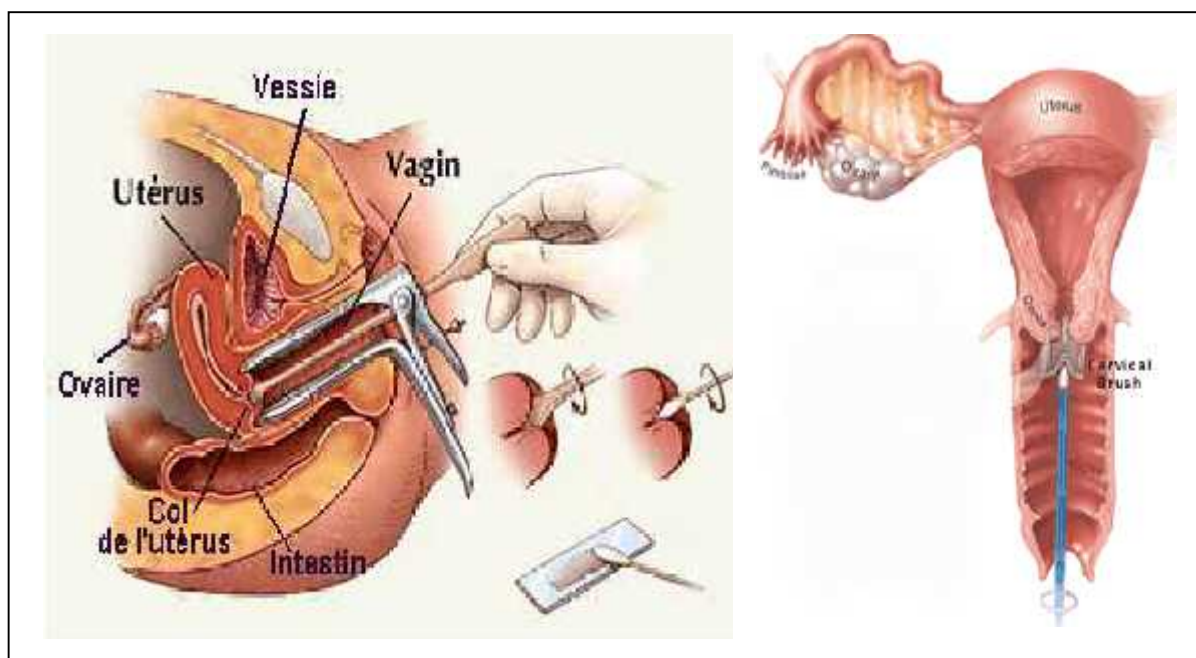


Fig. 5: Technique de prélèvement d'un frottis cervico-vaginal
(Decaussin-Petrucci, 2006)

Les résultats des dépistages sont obtenus après coloration des frottis soit par :

- la méthode de **Papanicolaou** (voir annexes 1 et 3), la plus ancienne datant de plus de 50 ans en grande partie abandonnée mais encore utilisée. Elle comporte 4 classes :

- classe I : frottis propre
- classe II : frottis inflammatoire
- classe III : frottis suspect
- classe IV : présence de cellules carcinomateuses

- soit la méthode de **Bethesda** (voir annexes 2 et 3), datant de 1988, elle fait intervenir la notion d'infection à papilloma virus humain (HPV) dans le développement des cancers génitaux (Gandar, 1990). Elle identifie :

- Les lésions de bas grade incluant les CIN 1 ;
- Les lésions de haut grade incluant les CIN 2 et 3.

Le frottis dit en suspension liquide, consiste à prélever les cellules à la surface du col et à les transférer dans un milieu liquide adéquat. Le procédé consiste à randomiser l'échantillon, à éliminer de ce liquide le mucus, le sang et les globules blancs qui peuvent gêner l'interprétation. Les cellules sont ensuite transférées sur une couche mince permettant ainsi une interprétation plus aisée des anomalies cytologiques. Avec les techniques validées, il est démontré qu'on améliore la qualité des échantillons mais aussi la performance diagnostique de la détection cytologique des lésion dysplasique (Limay *et al.*, 2003) (Hutchinson *et al.*, 1999).

8. Dépistage histologique

La biopsie est un prélèvement tissulaire cervical généralement prélevé lors d'une colposcopie. L'examen microscopique permet le diagnostic des lésions condylomateuses qui se manifestent par la présence de :

- Coilocytes ;
- parakératose (cellules en voie de desquamation fortement kératinisées) ;
- papillomatose (épaississement de la muqueuse avec disposition en plis) ;
- et souvent une hypercanthose (bourgeonnement vers le stroma).

La lésion dysplasique est caractérisée par la présence des troubles de maturation : perturbation de la différenciation cellulaire, activité mitotique importante de la muqueuse basale avec dysmaturité nucléocytoplasmique.

Les classifications de l'OMS en 1968 et de Richart en 1975 superposables et applicables à la cytologie ont permis de subdiviser les dysplasies en histologie (voir Annexe 4 et annexe 5).

9. La colposcopie

En 1925, Hinselmann introduisait la colposcopie afin d'explorer le col utérin aux caractéristiques d'infection à HPV tel que les colpites virales révélées par :

- L'application de l'acide acétique à 3 % durant 20 à 45 secondes. La couche de mucus cervicale s'estompe et le réactif révèle d'éventuelles lésions : différences de densité cellulaire, d'épaisseur et de kératinisation de la muqueuse et interruption de l'épithélium. Pour bien observer le support vasculaire cellulaire l'usage d'un filtre vert est utile.

- l'application de solution iodée de lugol (test de Shiller) permet de meilleure définition des limites de la lésion et son degré de maturation, les tissus matures riches en glycogène absorbent l'iode ; les lésions carcinomateuses sont « iodo négatives ».

Des images encore plus évocatrices comme les condylomes ou encore les transformations atypiques de grade I ou II, sont observées, considérées comme des précurseurs des carcinomes invasifs (Singh, 1990).

10. Marqueurs biologiques

Deux marqueurs sont actuellement utilisés : l'Antigène Carcino-Embryonnaire (ACE) et l'Antigène Squamous Cell Carcinoma (SCC). Ils doivent être dosés avant tout geste thérapeutique. Outre leur valeur pronostique, ils servent à apprécier la qualité du traitement.

- **L'ACE** : Te Velde *et al.* (1988) ont montré qu'un taux élevé supérieur à 5µg/L, surtout à un stade précoce de la maladie, était de mauvais pronostic avec un taux élevé de récurrence après traitement initial.

- **Le SCC** : un taux élevé de l'antigène SCC supérieur à 15 µg/L semble être de mauvais pronostic (Villet, 1990).

11. Test HPV et le dépistage du cancer du col utérin

Le HPV ayant été identifié comme une cause nécessaire du cancer du col utérin, tester sa présence pourrait être un moyen de dépistage efficace de ce cancer chez les femmes. Les HPV sont des virus extrêmement résistants au froid et à la dessiccation. Ils ne poussent pas en culture et par conséquent ne sont pas détectables par la sérologie (Monsonégo, 1988).

Plusieurs méthodes de détection sont utilisées à savoir ; la microscopie électronique, le test à l'immunopéroxydase et les techniques de biologie moléculaires.

11. 1. Microscopie électronique (ME)

Cette méthode est laborieuse en routine est le nombre de particules HPV repéré est faible. Elles sont plus souvent repérées dans les lésions productives (Koilocytes, cellules dyskératosiques) (Monsonégo, 1988).

11. 2. Test à l'immunopéroxydase (TIP)

C'est un test immunohistochimique mettant en évidence les protéines de la capsid virale. Ces deux méthodes (ME, TIP) reconnaissent les virus dans les lésions bien différenciées et donc peu dysplasiques. En effet, à ce stade le virus se multiplie dans les cellules qu'il réinfecte et se trouve ainsi à l'état libre. Au stade de dysplasie avancée, le virus intègre progressivement le génome cellulaire ; il induit ainsi des modifications des protéines de la cellule, avec comme conséquence un manque de maturation et de différenciation du tissu. C'est pourquoi dans les lésions indifférenciées, la détection du virus par TIP est souvent négatif (Monsonégo, 1988).

11. 3. Techniques de biologie moléculaire

Reposent sur la mise en évidence de l'ADN viral dans les cellules infectées. On distingue les techniques de détection de l'ADN viral sans amplification

(techniques d'hybridation moléculaire) et après amplification par PCR (techniques d'amplification) (Lopes, 2005).

11. 3. 1. Techniques d'hybridation moléculaire

Plusieurs techniques sont disponibles : le southern blot est une technique très longue (plusieurs jours), lourde et onéreuse, qui manque de sensibilité et ne peut être appliquée au dépistage de masse. Le dot-blot est une méthode qui présente l'intérêt d'être plus sensible, plus simple et plus rapide que le southern-blot mais, elle manque de spécificité (faux positifs) (Lopes, 2005).

A - L'hybridation in situ (HIS)

Elle est réalisée sur frottis cellulaires et/ou coupes tissulaires. Elle permet de préserver la morphologie du prélèvement et de localiser spécifiquement les cellules infectées, donc d'établir des corrélations avec l'histopathologie (Lopes, 2005).

B - L'hybridation en phase liquide

Cette technique d'hybridation moléculaire non radioactive, commercialisée par Digene Diagnostics sous le nom de Hybrid CaptureTM a été agréée comme méthode de détection des HPV par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) (Pascal, 2003).

A partir d'un brossage cervico-vaginal, la détection de l'ADN viral se fait par hybridation avec des sondes ARN. La capture des hybrides est réalisée avec un anticorps spécifique des hybrides et ces couples ADN/ARN sont ensuite révélés par une technique immunoenzymatique utilisant un substrat qui permet une amplification du signal par un mécanisme de chimio-luminescence.

Il existe deux mélanges de sondes : sondes d'ARN spécifiques de 13 types d'HPV à haut risque oncogène (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) et de 5 types HPV à bas risque oncogène (6, 11, 42, 43, 44) (Lopes, 2005) (Figure 6).

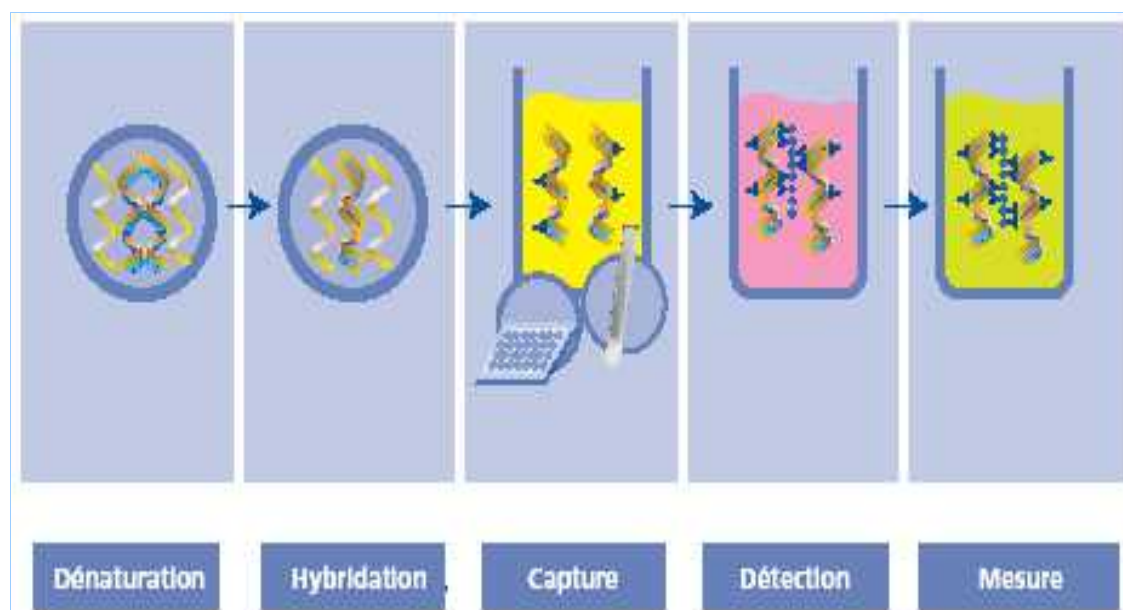


Fig. 6 : Les étapes du test Hybride Capture TM (Pascal, 2003)

C'est une méthode simple, rapide (environ 4 heures), reproductible, très sensible et applicable en routine à de grandes séries. Elle permet aussi une analyse semi-quantitative de la charge virale mais elle ne permet pas de génotyper spécifiquement l'HPV isolé à partir des cellules infectées (Lopes, 2005).

11. 3. 2. Les techniques d'amplification

A - PCR

A l'heure actuelle, la technique d'amplification en chaîne de séquences d'ADN par la polymérase (polymerase chain reaction ou PCR) est la méthode la plus sensible (elle nécessite 10 à 100 copies d'ADN dans le prélèvement pour être positive) pour mettre en évidence l'HPV au niveau des prélèvements génitaux. Cette réaction est le plus souvent réalisée à l'aide d'amorces dites consensus ; elles sont choisies au sein des régions communes et très conservées des génomes d'HPV et permettent l'amplification de la grande majorité des génotypes anogénitaux. Les amorces consensus les plus couramment citées dans la littérature sont les couples MY09/MY11 et GP5+/GP6+, tous les deux localisés dans la région L1. L'identification du génotype précis d'HPV s'effectue dans un second temps à partir du produit de PCR; différentes stratégies peuvent être suivies : l'hybridation

à l'aide de sondes spécifiques, les analyses de profil de restriction et le séquençage direct du produit de PCR. Pour augmenter la sensibilité de la PCR, on peut utiliser 2 couples d'amorces et réaliser 2 PCR successives (PCR nichée ou nested-PCR).

A côté de ces techniques « maison », une trousse PCR (marquée CE-IVD) vient récemment d'être commercialisée par Roche diagnostics sur le principe de la détection globale des 13 génotypes HPV à haut risque avec absence de génotypage précis. La PCR reste une technique délicate, exposée aux risques de contamination (Lopes, 2005).

B - PCR in situ

Au même titre que l'hybridation in situ, cette technique permet d'associer la très grande sensibilité de la PCR et la localisation tissulaire des acides nucléiques. Cette technique qui permet de génotyper des HPV sur des coupes fixées en paraffine, s'avère souvent très délicate, difficile dans sa réalisation et sa reproductibilité avec un risque de faux positifs lié à un bruit de fond trop élevé (Lopes, 2005).

C - PCR quantitative

Le développement de PCR quantitatives notamment celles basées sur la technologie récente en temps réel permet de mesurer la charge virale du virus au sein d'un échantillon. L'apport de ce paramètre quantitatif en tant que facteur pronostic d'évolutivité de la lésion cervicale reste encore néanmoins à évaluer.

12. Immunomarquage moléculaire : P16

La P16 est une protéine de prolifération qui est normalement exprimée au cours de la division cellulaire. Elle fait partie d'un ensemble de protéines chargées de réguler le cycle, et intervient pour ralentir la préparation de la phase G1/S de synthèse des brins complémentaires d'ADN, qui prélude à la mitose. Sa propre synthèse est commandée par un gène situé sur le bras court du chromosome 9. Au cours de plusieurs cancers (leucémies, vessies, voies aérodigestives supérieures, poumon ...), la fonction de la protéine P16 est perdue, par mutation ponctuelle,

délétion ou méthylation de l'ADN. Dans les lésions de haut grade induites par une infection persistante par un type oncogène d'HPV et les cancers du col utérin s'observe au contraire une accumulation importante de P16, à la fois nucléaire et cytoplasmique (Monsonogo, 2007).

13. Traitement des lésions génitales

Les taux de survie donnent une indication directe de la gravité de la maladie et de l'impact du traitement du cancer. Dans le cancer du col utérin, les taux de survie à 5 ans sont généralement élevés.

Le traitement d'une lésion cervicale est engagé par la gynécologue dès le résultat de l'examen cytologique confirmé par la biopsie dirigée par la colposcopie.

Les lésions génitales sans dysplasie seront traitées par un agent chimique (acide trichloroacétique à 85 %), Thermocoagulation ou au laser. Lors d'un HPV à haut risque associé à ces lésions, un suivi attentif est nécessaire.

Le traitement du cancer cervical dépend du stade d'évolution de la maladie, de la taille de la tumeur ainsi que de l'âge de la patiente, de son état de santé général et de son désir de conserver sa fertilité. La forme la plus précoce du cancer du col utérin est le carcinome *in situ* (stade 0), un cancer non envahissant qui peut être traité à l'aide de diverses techniques, telles que l'excision électrochirurgicale à l'anse, la conisation (prélèvement sur le col utérin, d'un fragment endocervical de forme conique), la cryothérapie, le traitement au laser ou l'hystérectomie.

Au stade avancé, le cancer a envahi d'autres parties de l'organisme et relève généralement d'une radiothérapie, d'une chimiothérapie, ou des deux modalités thérapeutiques (Haouam, 2003).

13. 1. Cancer du col au stade 0

Avec un traitement approprié, le taux de guérison du carcinome cervical *in situ*, CIN II ou CIN III devrait approcher les 100 %. Une maladie envahissante non dépistée, traitée par une thérapie ablative inadéquate, est la cause d'échec la plus courante.

Les méthodes de traitement des lésions malpighiennes exocervicales incluent la cryothérapie, l'excision électrochirurgicale à l'anse diathermique, le traitement au laser, la conisation ou l'excision.

Lorsque le processus néoplasique s'étend jusqu'à la marge du cône endocervical, il faut exclure toute possibilité de cancer envahissant.

Pour l'adénocarcinome in situ (ACIS) du col, le traitement repose sur :

- la conisation (si les marges du cône étaient précédemment négatives);
- l'hystérectomie abdominale ou vaginale;
- si les marges du cône sont positives, une évaluation s'impose afin d'exclure tout adénocarcinome envahissant.

13. 2. Cancer envahissant du col

Différents traitements sont proposés en rapport avec le stade de la tumeur :

13. 2. 1. Stade IA et stade IA1

- Conisation : Si la profondeur de l'envahissement est inférieure à 3mm, si aucune atteinte du système vasculaire ou lymphatique n'est observée et si la patiente désire de préserver sa fertilité.

- Hystérectomie totale : Si la profondeur de l'envahissement, attestée par conisation, est inférieure à 3mm, si les marges sont nettes et s'il n'y a pas d'atteinte des voies vasculaires ou lymphatiques, la fréquence de l'infiltration ganglionnaire est suffisamment faible pour que la lymphadénectomie ne soit pas nécessaire.

L'ovariectomie est facultative et doit être reportée à une date ultérieure chez les femmes plus jeunes.

- Curiethérapie endocavitaire : Au stade IA1 et lorsque l'on observe aucun envahissement capillaire ou lymphatique, la fréquence de l'infiltration ganglionnaire est suffisamment faible pour rendre superflu l'emploi d'un faisceau externe. En cas d'atteinte de l'espace vasculaire, il faut traiter comme un stade IA2.

13. 2. 2. Stades IA2, IB et IIA

- Hystérectomie radicale avec lymphadénectomie pelvienne : envisagée dans les cas où la profondeur de l'envahissement tumoral est incertaine en raison d'une tumeur envahissante située au niveau de la marge de résection du cône chirurgical.
- Curiethérapie intracavitaire et radiothérapie externe.
- Trachélectomie et paramétrectomie radicale avec lymphadénectomie pelvienne : pour les patientes désireuses de préserver leur fertilité et qui présentent une lésion de petite taille, il s'agit d'une nouvelle option thérapeutique à envisager. Les résultats à long terme de cette intervention ne sont pas encore connus.

En cas d'adénocarcinome envahissant, les options de traitement sont les mêmes que celles susmentionnées.

13. 2. 3. Stade IIB

D'ordinaire, les cancers du col au stade II sont traités par radiothérapie.

13. 2. 4. Stade III

Le traitement de choix est la radiothérapie externe parallèlement à une curiethérapie endocavitaire. Les patientes présentant une atteinte unilatérale de la paroi pelvienne ont un meilleur pronostic que celles dont l'atteinte est bilatérale ou dont le tiers inférieur du vagin est atteint.

13. 2. 5. Stade IV

Le traitement de choix est la radiothérapie. En présence d'une fistule rectovaginale ou vésicovaginale, ou d'une absence de réponse à la radiothérapie, et s'il n'y a aucune atteinte régionale ou à distance, une exentération pelvienne peut être envisagée.

Aucun traitement chimiothérapeutique standard du cancer du col de stade IV n'a un effet palliatif appréciable. La thérapie par irradiation hyperfractionnée peut être utilisée en cas de lésion centrale, ainsi que la chimiothérapie et l'exentération pelvienne (Drouin *et al.*, 1999).

13. 3. Cancer du col récidivant

Il n'existe aucun traitement standard pour les récurrences régionales ou à distance du cancer du col. Certaines patientes peuvent être des candidates appropriées aux essais cliniques testant des combinaisons de médicaments ou de nouveaux agents anticancéreux. Dans le cas d'une récurrence centrale localisée, l'exentération pelvienne peut permettre une survie à cinq ans de 50 à 60% chez certaines patientes.

Pour les récurrences dans le bassin seulement, lorsque la patiente a subi un traitement primaire par chirurgie, la radiothérapie seule ou combinée à la chimiothérapie peut guérir 40 à 50% des patientes (Drouin *et al.*, 1999).

14. Suivi

Chez les patientes atteintes d'un cancer envahissant du col dont le traitement par chirurgie ou radiothérapie est terminé, une récurrence peut survenir. Le cas échéant, la récurrence se produit dans 80% des cas durant les premières années du suivi et, dans 98% des cas, au cours des cinq premières années. Lors de chaque visite, il faut effectuer un examen gynécologique, une palpation des ganglions lymphatiques (supraclaviculaires et inguinaux) et un examen cytologique.

Pour la fréquence du suivi, il est conseillé de le faire:

- une fois tous les trois mois durant la première année ;
- une fois tous les quatre mois durant la deuxième année ;
- une fois tous les six mois entre la troisième et la cinquième année ;
- une fois par an entre la sixième et la dixième année de suivi, puis selon les besoins.

Pendant les cinq premières années, le suivi de la patiente doit être assuré par un centre de soins tertiaire spécialisé dans le traitement du cancer (Drouin *et al.*, 1999).

CHAPITRE II

Biologie Et Immunologie Des Infections A HPV

1. Infections virales à HPV

Human papillomavirus (HPV) représente l'une des maladies sexuellement transmissibles les plus fréquentes. La fréquence des infestations virales à HPV a augmenté ces dernières années. Elle est actuellement estimée à environ 6 % dans la population générale. La prévalence est actuellement deux fois supérieure à celle de l'herpès génital. Les HPV affectent 1 à 2 % de la population aux États-Unis, mais 10 à 15 % de la population présenterait une infection latente (Laurent, 1996) (Frisch *et al.*, 1997).

Il est bien démontré que le HPV joue un rôle primordial dans le développement des lésions intra-épithéliales et des cancers génitaux chez la femme, du cancer anal et probablement pénien. Ce virus a un tropisme particulier pour l'épithélium épidermoïde en général. Cette caractéristique explique sans doute son implication dans d'autres cancers, comme les carcinomes épidermoïdes de la sphère ORL et de l'œsophage (Bosch *et al.*, 1995).

Des données épidémiologiques ont démontré le rôle des HPV dans la genèse de ces lésions. En effet, des HPV ont été retrouvés dans 93 % des cancers du col. Chez une femme porteuse de HPV surtout oncogène, le risque de cancer est augmenté 130 fois. Ce risque est multiplié par 10 à 30 pour le cancer anal (Mork *et al.*, 2001).

Les HPV sont des virus d'ADN circulaire qui infectent les cellules épithéliales et provoquent des lésions tumorales. L'infestation virale se produit au niveau d'une excoriation ou d'une ulcération et se traduit par la présence d'ADN épisomal dans les assises basales. La réplication virale se fait au niveau du noyau et se produit dans les assises plus superficielles en même temps que la différenciation de l'épithélium. Dans les néoplasies intra-épithéliales de haut grade et les carcinomes infiltrants, le génome de certains types de HPV s'intègre à l'ADN chromosomique (Sobhani *et al.*, 2001).

2. Famille des papillomavirus

Les papillomavirus ont été mis en évidence par des techniques moléculaires au milieu des années 1970 et il a été déjà proposé que la diversité des lésions observées puisse être liée à la diversité génétique de ces virus (Zur Hausen, 1977). Les papillomavirus appartiennent à la grande famille des papillomaviridae dont 118 génotypes ont été totalement caractérisés et séquencés en 2004 (De Villiers *et al.*, 2004). Les papillomavirus sont des virus ubiquitaires très anciens et très stables, qui ont évolué avec leurs hôtes respectifs. Beaucoup d'espèces animales abritent des papillomavirus telles que les bovins, les caprins les équins, les rongeurs, les oiseaux, les reptiles et l'homme. C'est chez ce dernier que la plupart des génotypes ont été identifiés et nous comptons 96 HPV et 22 papillomavirus animaux. Il n'a pas été rapporté de contamination croisée entre espèces animales, ce qui suggère que chaque papillomavirus est spécifique de son hôte (Stanley *et al.*, 2006).

3. Classification des papillomavirus

La classification actuelle repose sur des identités de séquence codant la protéine majeure de capsid L1, la protéine la plus conservée. Nous distinguons seize genres qui possèdent moins de 60 % d'identité et sont désignés par une lettre grecque (alpha à pi). Ces genres se subdivisent en espèces qui présentent 60 à 70 % d'identité sur L1 et sont numérotés à l'aide d'un chiffre arabe. Au sein des espèces, nous retrouvons les « types classiques » de papillomavirus qui partagent entre 71 et 89 % d'identité de séquence sur L1 (De Villiers *et al.*, 2004).

Cette classification coïncide parfois avec les propriétés biologiques des virus. Néanmoins, il est classique de distinguer les HPV cutanés des HPV muqueux en fonction de leur site d'infection préférentiel et les HPV à haut risque des HPV à bas risque en fonction de leur potentiel oncogénique. Ainsi certains virus sont responsables de lésions bénignes telles que les verrues plantaires ou palmaires (HPV 1, HPV 2), ou encore des condylomes génitaux (HPV 6, HPV 11).

D'autres sont à l'origine de lésions précancéreuses et cancéreuses au niveau de la peau (HPV 5, HPV 8 associés à une génodermose rare, l'épidermodysplasie verruciforme) ou des muqueuses (principalement HPV 16 et HPV 18). On estime que 80 à 90 % des condylomes génitaux externes sont associés aux HPV 6 et HPV 11 et plus de 70 % des cancers du col utérin sont associés aux HPV 16 et HPV 18 (Tableau I) (Monsonogo, 2007).

Tableau 1 : Manifestations cliniques des principaux types d'HPV muqueux (Monsonogo, 2007)

HPV muqueux	Types principaux	Autres types	Expression clinique
HPV à bas risque	6, 11	42, 43, 44, 55	Condylomes externes génitaux Papillomatose laryngée Tumeurs de Buschke-Löwenstein
HPV à haut risque	16, 18	31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68	Cancer du col utérin et lésions précurseurs Carcinomes du : pénis, vulve, vagin, anus Condylomes plans Maladie de Bowen

4. Organisation structurale et génomique

Les papillomavirus sont des virus nus donc très résistants aux conditions environnantes. En particulier, ils sont peu sensibles à la chaleur ou encore au chlore utilisé dans les piscines. Ce sont des petits virus de 52 à 55 nm de diamètre dont la capsid est composée de 72 capsomères qui s'organisent en une symétrie icosaédrique (figure 7) (Stanley *et al.*, 2006). Le génome des HPV est constitué d'un ADN circulaire double brin d'environ 7 900 paires de base. L'ensemble des gènes est transcrit à partir d'un seul brin. Il existe environ 79 types différents de

HPV, d'après la classification établie en fonction des homologies de séquences (Sobhani, 2000).

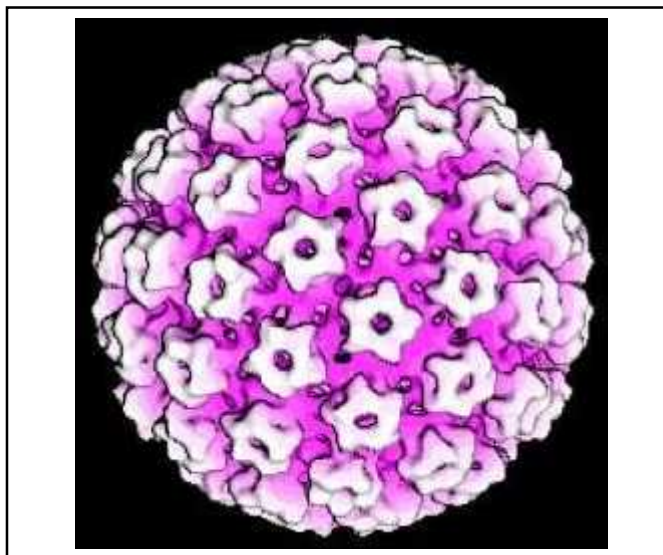


Fig. 7 : Modèle de la capsid virale du papillomavirus
(Stanley *et al.*, 2006)

L'analyse de la séquence de chacun des nombreux HPV étudiés révèle une organisation génétique similaire, constituée de 8 à 10 phases ouvertes de lecture (POL) codant pour des protéines de type précoce E (Early) ou tardif L (Late) ainsi que d'une région non codante (RNC), appelée également longue région de contrôle (LCR) (Sobhani, 2000).

Dans les lésions contenant des HPV oncogènes de type 16 et 18, les protéines des gènes E6 et E7 fixent les protéines cellulaires p53 et pRb (rétinoblastome) dont la conséquence est la dérégulation du cycle cellulaire et la transformation tumorale (figure 8) (Orth *et al.*, 1997).

Les principales propriétés biologiques des protéines codées par les différentes POL sont résumées dans le tableau II.

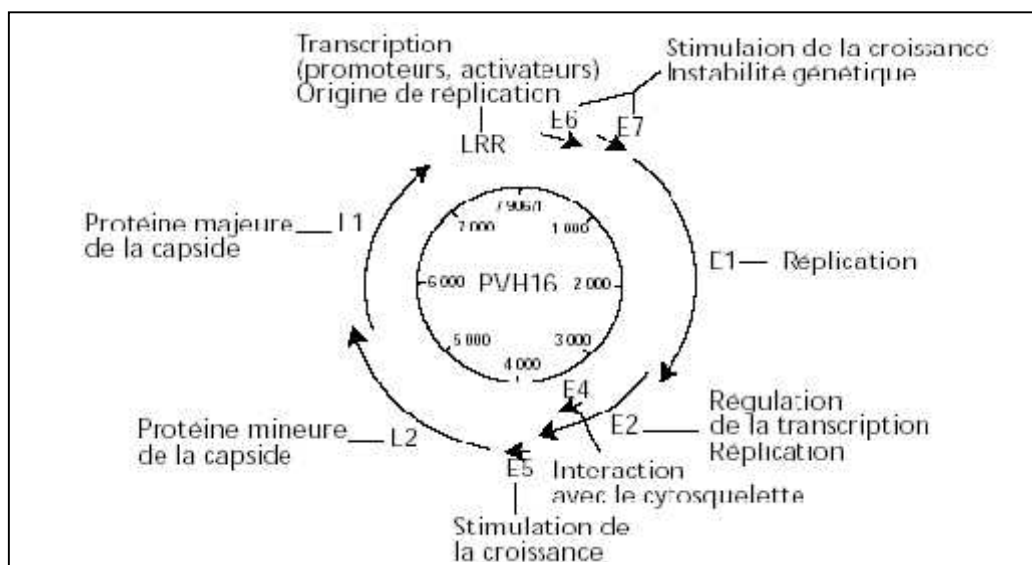


Fig. 8 : Organisation du génome du HPV 16 (Orth *et al.*, 1997).

Tableau 2 : Propriétés biologiques des protéines des HPV à haut risque et à bas risque (Monsonogo, 2007)

Protéine	HPV à bas risque	HPV à haut risque
E1	Activation de la réplication de l'ADN viral	
E2	Localisation nucléaire : - activation de la réplication de l'ADN viral en synergie avec E1 - répression de la transcription de E6 et E7	
		Localisation cytoplasmique : induction d'apoptose, d'instabilités génomiques
E4	Maturation des virions	
E5		Stimulation de la prolifération cellulaire : - recyclage des récepteurs à l'EGF et au PDGF - inhibition de l'expression membranaire du CMH de classe I
E6	Liaison à p53 : répression de son activité transcriptionnelle	
		Protéine oncogène , favorise la dégradation de p53 par le protéasome
E7	Liaison à p130 : favorise l'entrée en cycle des cellules	
		Protéine oncogène , favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb
L1	Protéine majeure de capside Auto-assemblage si produite <i>in vitro</i>	
L2	Protéine mineure de capside	

5. Cycle de multiplication virale

Après transmission par contact sexuel, les HPV vont infecter les cellules souches de l'épithélium malpighien. Les cellules cibles pourraient être atteintes directement par le virus au niveau de la zone de jonction entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol. Il est également proposé que le virus accède à ces cellules cibles *via* des microlésions présentes au niveau du col utérin (Monsonogo, 2007).

La figure 9 montre que l'infection des cellules souches épithéliales par les HPV peut se faire directement au niveau de la zone de jonction (A1) ou grâce à une microlésion présente au niveau de l'exocol (A2).

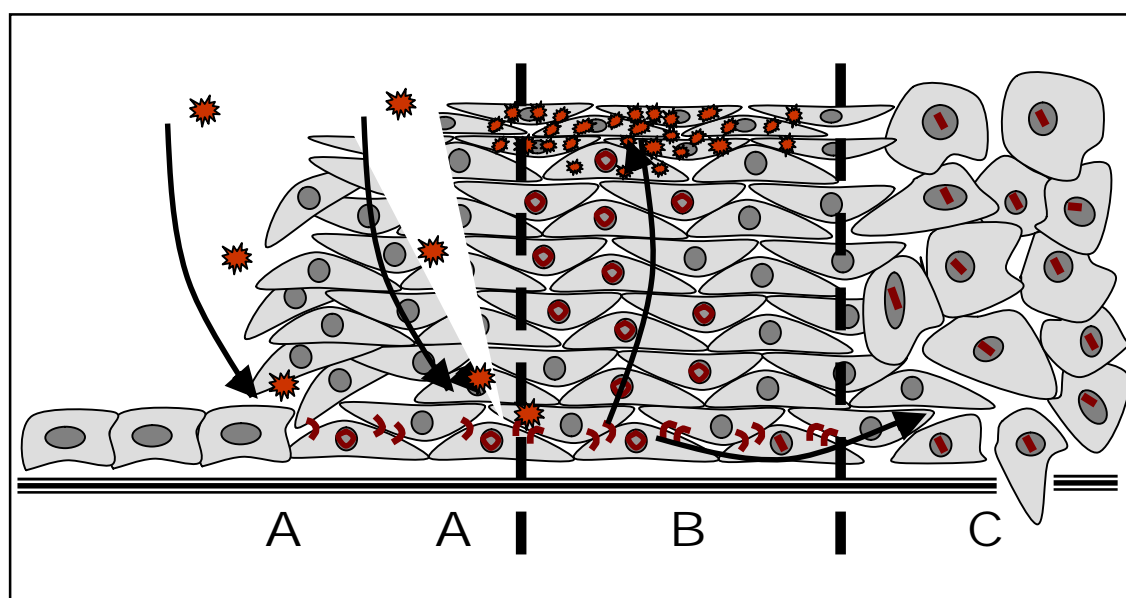


Fig. 9 : Cycle de multiplication des HPV (Monsonogo, 2007)

Les virions ciblent les cellules souches qui possèdent un (des) récepteur (s) ad hoc. (B) le génome virale est répliqué sous forme épisomale dans le noyau des cellules épithéliales. Au fur et mesure de la différenciation, les protéines tardives des HPV sont produites et permettent l'assemblage des virions. Ceux-ci sont libérés de façon concomitante à la desquamation des cellules épithéliales. (C) L'intégration de l'ADN virale (trait dans les noyaux) est une caractéristique des HPV à haut risque. Elle conduit à une expression accrue de E6 et E 7,

oncoprotéines virales responsable de la perte de point de contrôle du cycle cellulaire et c'est l'action combinée de E6 et E7 qui est responsable de l'immortalisation puis de la transformation de la cellule infectée par un HPV à haut risque (Monsonogo, 2007).

5. 1. Entrée cellulaire

Les mécanismes d'entrée des papillomavirus humains sont encore loin d'être parfaitement bien élucidés. C'est grâce à l'utilisation de pseudo-particules virales que les interactions virus-cellule sont mieux appréhendées. Les récepteurs utilisés seraient spécifiques des types d'HPV. Des héparanes sulfates favoriseraient la fixation des virus sur la membrane cellulaire (Giroglou *et al.*, 2001) et une intégrine serait nécessaire à l'entrée des papillomavirus. À titre d'exemple, l'HPV 6 semble utiliser l'intégrine $\alpha_6\beta_1$ ou $\alpha_6\beta_4$ mais pas l'HPV 11 ou l'HPV 33.

Très récemment, il a été rapporté que la laminine 5, une protéine de la lame basale et ligand des intégrines serait capable de piéger des virions HPV 11 ou des VLP HPV 11 et faciliterait leur interaction avec des cellules épithéliales exprimant l'intégrine $\alpha_6\beta_4$ (Culp, 2006). Ensuite l'internalisation des virus se fait par endocytose grâce à des systèmes dépendant des clatrines pour les HPV 16 ou 58 ou par des systèmes dépendant des cavéoles pour l'HPV 31 (Bousarghin *et al.*, 2003).

Les virions sont ensuite transportés vers le noyau *via* le réseau protéique du cytosquelette (microtubules et/ou microfilaments d'actine). La décapsidation se fait juste avant l'entrée de l'ADN viral dans le noyau où la réplication peut débuter (Monsonogo, 2007).

5. 2. Réplication de l'ADN viral

La multiplication limitée du génome viral dans les cellules souches est sous le contrôle des protéines précoces E1 et E2. Ceci permet d'obtenir de 50 à 100 copies d'ADN viral par cellule et constitue la phase d'établissement. Cette étape du cycle de multiplication est dite non productive car il n'y a pas de production de virions. Cette phase prend place au cours de la phase S du cycle cellulaire.

Vient ensuite une phase de maintenance des génomes viraux qui 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 (Lehman et Botchan, 1998).

Au fur et à mesure que les cellules épithéliales se différencient, une phase d'amplification de l'ADN viral par un mécanisme de réplication de type « en cercle roulant » pourrait intervenir (Flores et Lambert, 1997).

De façon concomitante, la transcription des gènes tardifs est activée vraisemblablement par des facteurs cellulaires impliqués dans la différenciation épithéliale. L'expression des protéines L1 et L2 dans les couches les plus superficielles de l'épithélium permet alors l'encapsulation du génome et la production de nouveaux virions infectieux. Ces virions sont enfin libérés dans le milieu extérieur avec les cellules desquamantes. La muqueuse est alors très infectante et le risque de transmission des HPV est très important (Monsonogo, 2007).

Le cycle viral est étroitement dépendant du cycle cellulaire. Pour maintenir les cellules en cycle, les protéines E7 et E6 sont exprimés à un faible taux. La protéine E7 des HPV à bas risque et à haut risque induit la dégradation de p130, une protéine régulatrice du cycle cellulaire, nécessaire au maintien des cellules en phase de quiescence (Zhang *et al.*, 2006). Par ailleurs, la protéine E6 des HPV à bas risque et à haut risque se lie à p53 et inhibe son activité transcriptionnelle, ce qui limite sa capacité à stopper le cycle en G1 ou en G2/M (Thomas et Chiang, 2005).

5. 3. Clairance et latence de l'infection

La plus part des infections sont contrôlées par des mécanismes qui ne sont pas encore parfaitement élucidés. Ainsi on estime, que la clairance virale est réalisée en huit à seize mois, et cette durée pourrait être différente en fonction des génotypes considérés (Franco *et al.*, 1999). La clairance des HPV à bas risque est de l'ordre de trois à six mois alors que celle des HPV à haut risque est de douze à seize mois. La mise en place d'une réponse immunitaire joue un rôle important dans la clairance virale et limiterait par ailleurs les réinfections ultérieures par les mêmes génotypes (Monsonogo, 2007).

Dans certains cas, l'infection virale peut être latente et une protéine issue de la traduction d'un petit transcrit de fusion E8 et E2 pourrait être responsable de ce phénomène en limitant très fortement la réplication de l'ADN viral (Stubenrauch *et al.*, 2000). Si ce type d'infection est asymptomatique, elle peut être réactivée au cours d'une période d'immunosuppression par exemple, conduire à une reprise de la réplication/production virale et finalement à l'apparition de lésion du col utérin (Monsonogo, 2007).

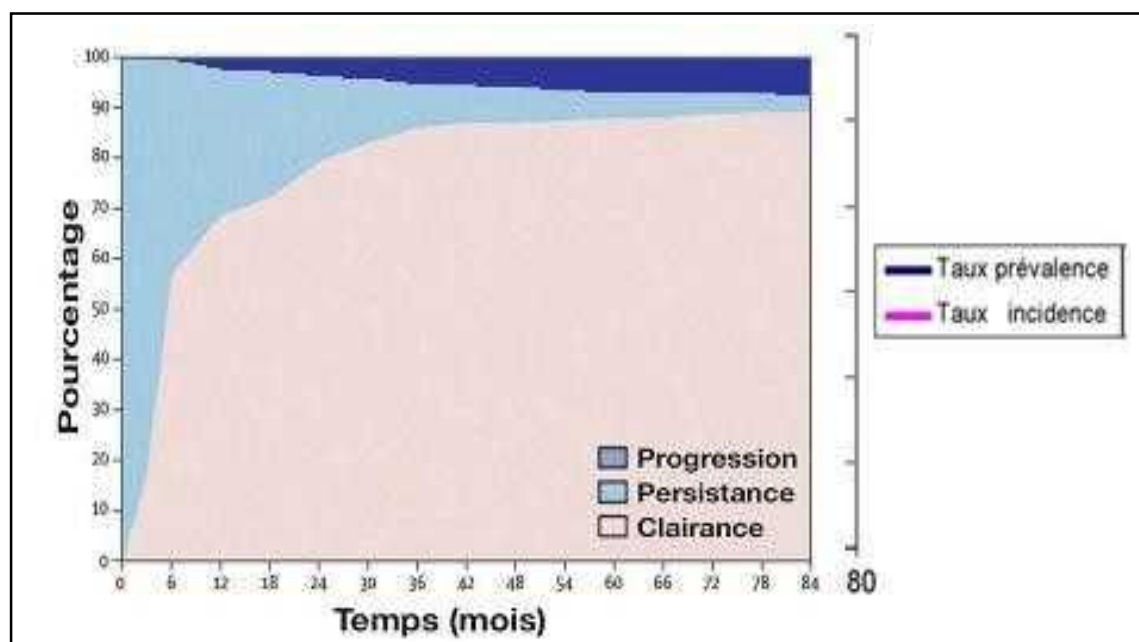


Fig. 10 : Persistance, clairance et progression des infections à HPV à haut risque (Clavel *et al.*, 2008)

6. Intégration des papillomavirus et carcinogénèse

L'intégration du génome des HPV dans celui de la cellule hôte est événement propre aux HPV à haut risque. C'est aussi un événement « terminal » dans le cycle de ces virus, car une fois leur génome intégré, la multiplication virale ne peut plus avoir lieu.

L'intégration nécessite tout d'abord la linéarisation du génome viral qui s'opère le plus souvent au niveau des phases ouvertes de lecture E1 et E2. Il s'ensuit des anomalies d'expression de la protéine E2 (absence d'expression, protéine tronquée, protéine inactive) qui n'inhibe plus l'expression des oncoprotéines virales E7 et E6. c'est l'expression continue et concomitante de E7 et E6 qui est à l'origine de l'immortalisation et de la transformation des cellules infectées (figure 11) (Aubin *et al.*, 2003).

La protéine E7 est composée de 98 acides aminés et de nombreuses études ont montré qu'elle se liait avec une forte affinité aux protéines suppresseurs de tumeur de la famille pRb, et en particulier à p105Rb hypophosphorylée. Cette liaison favorise la dissociation des complexes p105Rb -E2F, conduisant à la libération des facteurs de transcription E2F, ce qui favorise l'entrée de la cellule en phase S. plus récemment il a été observé que E7 induisait la dégradation de p105Rb par le protéasome et que cette dégradation été nécessaire à l'immortalisation des cellules et à l'induction d'anomalies lors de la mitose (Aubin *et al.*, 2003).

La protéine E6, en coopération avec E7, joue aussi un rôle important dans l'immortalisation et la transformation des cellules. E6 a la propriété d'interagir avec de nombreuses protéines cellulaires et la première identifiée fut la protéine suppresseur de tumeur p53. Cette protéine qui est mutée dans plus de 50 % des cancers humains est sauvage dans les cancers du col utérin. La demi-vie de p53 est considérablement réduite dans les cellules infectées par les HPV à haut risque. En effet E6 favorise la dégradation de p53 en association avec l'ubiquitine ligase

E6AP (E6 associated protein). E6AP assure l'étiquetage de p53 par des molécules d'ubiquitine qui constituent un signal de dégradation par le protéasome 26S.

Par ailleurs E6 est capable de séquestrer p53 dans le cytoplasme sans la dégrader mais en bloquant son activité de facteur de transcription essentiel dans la régulation du cycle cellulaire. En fin, une part importante de l'activité immortalisante de E6 passe par le ciblage d'autres protéines cellulaires.

En particulier, E6 active la transcription du gène Htert qui code la sous-unité catalytique limitante de la télomérase favorisant son activité et donc le maintien des télomères au cours des divisions successives (Gewin et Galloway, 2001).

E6 interagit aussi avec de nombreuses autres protéines à domaine PDZ impliquées dans la régulation du cycle cellulaire ou dans l'adhérence. Ainsi, l'action combinée des oncoprotéines virales E6 et E7 conduit à une prolifération cellulaire qui n'est plus contrôlée et s'accompagne d'une accumulation d'anomalies génétiques qui peut conduire à l'immortalisation puis à la transformation de la cellule.

Le rôle de E6 et E7 dans la carcinogenèse induit par les HPV à haut risque est aujourd'hui bien établi. Néanmoins, d'autres mécanismes entrent en jeu. En effet, l'ADN viral s'intègre dans le génome cellulaire et ceci de façon aléatoire. La mutagenèse insertionnelle est très rare. Toutefois, une intégration à proximité ou dans un oncogène ou anti-oncogène cellulaire a déjà été décrite et peut contribuer au processus d'immortalisation (Reuter *et al.*, 1998).

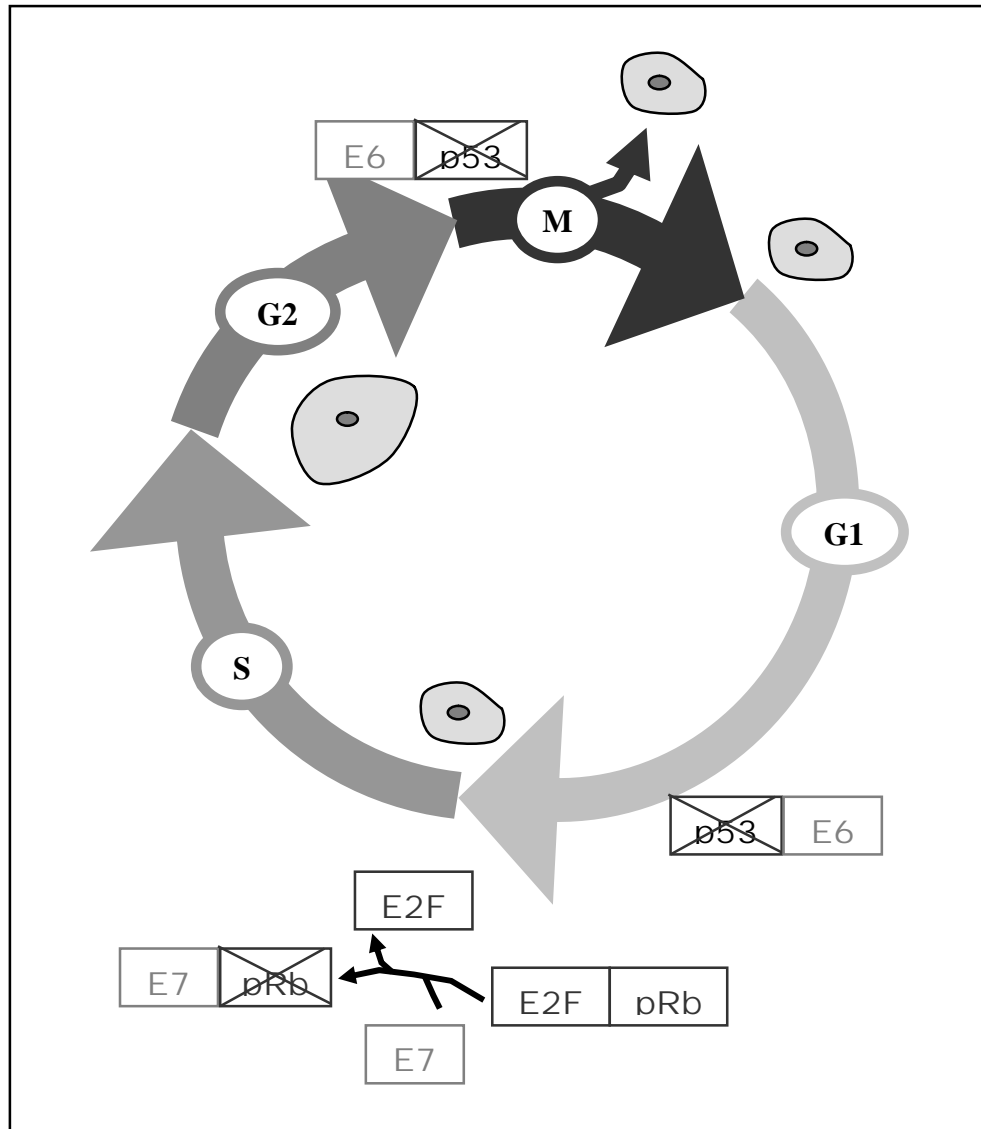


Fig 11: Mécanismes moléculaires de la carcinogenèse induite par les HPV à haut risque (Aubin *et al.*, 2003).

7. Réponses immunitaire anti-HPV

La particularité des HPV est d'avoir pour cible les kératinocytes basaux des épithéliums malpighiens kératinisés ou non. Après une brèche dans l'épithélium la pénétration des HPV dans les kératinocytes se fait grâce à des récepteurs qui leur sont propres, bien identifiés pour certains HPV (comme l'intégrine alpha-6 pour HPV 6), moins bien identifiés pour d'autres (glycosaminoglycanes, syndécane-1, héparanes sulfates pour HPV 16).

Les antigènes viraux, après leur pénétration dans le kératinocyte, peuvent alors être présentés à la surface de ces cellules sous forme de peptides de petite taille (8 à 11 acides aminés) en association avec les molécules HLA de classe I ou de peptides de plus grande taille (13 à 25 acides aminés) en association avec les molécules HLA de classe II présentes sur les kératinocytes infectés (Monsonogo, 2007).

La stimulation du système immunitaire lymphocytaire T, initialement naïf vis-à-vis des HPV, passe obligatoirement par une présentation de l'antigène aux lymphocytes T, par des cellules présentatrices professionnelles de l'antigène de la lignée des cellules dendritiques (CD) incluant les cellules de Langerhans présentes dans les épithéliums malpighiens. Les cellules de Langerhans ont la propriété de pouvoir fixer les particules virales entières grâce aux récepteurs aux HPV qu'elles présentent à leur surface (Frazer *et al.*, 1999).

Elles ont aussi la propriété d'internaliser des particules virales comme cela a été montré *in vitro* pour les cellules dendritiques en présence de particules virales vides (Da Silva *et al.*, 2001).

Les cellules de Langerhans ont ensuite la capacité de pouvoir migrer vers les organes lymphoïdes drainant les sites concernés et transportent alors soit des particules virales entières soit des corps apoptotiques de kératinocytes. Les cellules de Langerhans après avoir capté l'antigène, subissent des transformations et l'expression de CCR7 à leur surface leur permet de migrer sous l'attraction de la chimiokine MIP-3 bêta (Charbonnier *et al.*, 1999), une fois dans ces organes lymphoïdes, les cellules de Langerhans elle-même ou bien *via* d'autres cellules dendritiques présentent ces antigènes à la fois aux lymphocytes T CD4+ et TCD8+ (figure 12) (Monsonogo, 2007).

Les lymphocytes T ainsi stimulés, acquièrent la propriété à leur tour, *via* un jeu de synthèse de chimiokines et d'expression de molécule de surface, de migrer grâce à la circulation sanguine cette fois, vers les épithéliums infectés et d'aller au contact des kératinocytes infectés.

Le rôle de lymphocyte T dans l'élimination des kératinocytes infectés, même s'il n'a pas encore été démontré de façon formelle, est de détruire ces kératinocytes, soit par cytotoxicité directe, soit par l'interaction de la molécule Fas-L présente sur les lymphocyte T et de la molécule Fas présente sur les kératinocytes infectés ou tumoraux. Soit encore grâce à la synthèse par les lymphocytes T de cytokines comme le TNF- .

La reconnaissance des kératinocytes infectés par les lymphocytes T activés est favorisée par la synthèse d'IFN- qui permet d'augmenter l'expression de molécules HLA de classe I et II à la surface des kératinocytes (Monsonogo, 2007).

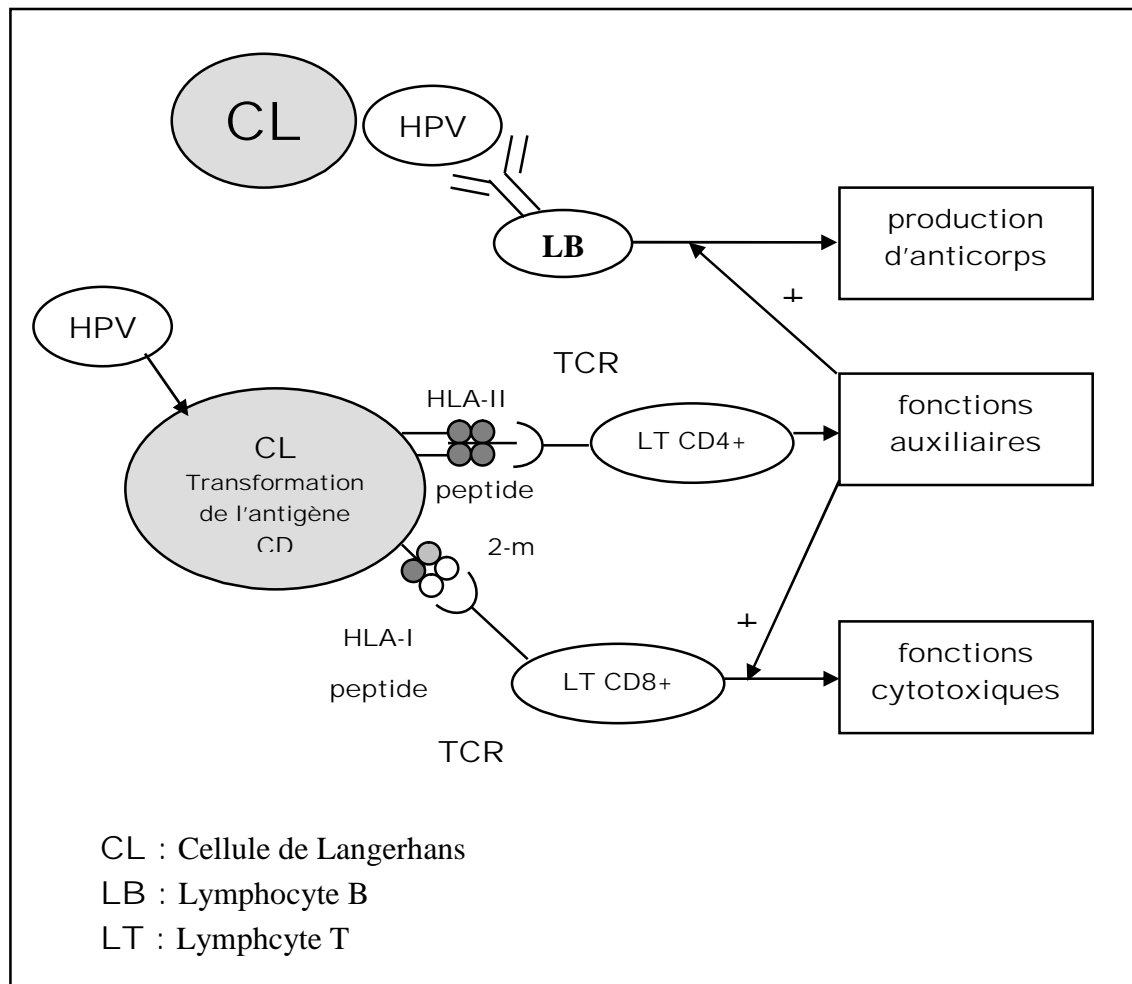


Fig. 12 : Réponses immunitaires à HPV (Monsonogo, 2007)

8. HPV et la vaccination

L'origine virale du cancer du col de l'utérus ouvre la possibilité d'envisager une vaccination soit pour prévenir l'infection (vaccin prophylactique), soit pour l'immunothérapie si l'infection a déjà eu lieu (vaccin immunothérapeutique).

Le principe de la vaccination thérapeutique, qui est une forme d'immunothérapie, est d'induire une réponse immunitaire contre un constituant spécifique des cellules tumorales ciblées (antigène tumoral), réponse qui se traduit en particulier par la production de "cellules tueuses" capables de détruire très spécifiquement la tumeur.

Les vaccins à HPV prophylactiques actuels sont fondés sur les VLP (Virus-Like particles). Il s'agit de la production d'une capsidie entière dépourvue d'ADN et composée de l'assemblage de la protéine majeure L1 de l'enveloppe virale des HPV à risque. En microscopie électronique ces VLP ne peuvent se distinguer des virus eux-mêmes. Ce vaccin est indiqué pour la prévention des dysplasies cervicales de haut grade (CIN 2/3), du cancer du col utérin, de lésions dysplasiques vulvaires de haut grade (VIN 2/3), mais aussi de lésions génitales externes (condylomes acuminés) liées à un HPV de type 6 et 11 (Ministère de la santé et des solidarités français, 2006).

8. 1. Histoire de la vaccination à HPV

Le développement de vaccins prophylactiques HPV s'est longtemps heurté à divers problèmes techniques. Le cycle viral du papillomavirus étant strictement lié à la différenciation des cellules épithéliales, il est donc difficile de produire ce virus en culture et ainsi d'envisager l'élaboration de vaccins atténués ou tués. De plus, les vaccins vivants atténués auraient contenu des gènes viraux potentiellement oncogènes ce qui aurait interdit leur utilisation à titre préventif chez les individus en bonne santé.

Pour produire ce vaccin, l'attention s'est alors tournée vers la protéine L1, protéine majeure de capsidie, qui porte les épitopes conformationnels responsables de l'induction d'anticorps neutralisants. Les premières tentatives visant à produire

cette protéine à partir de bactéries ont échoué : la protéine purifiée était le plus souvent produite sous une mauvaise conformation et n'induisait pas une production suffisante d'anticorps neutralisants dans les modèles animaux.

La réalisation de vaccins préventifs anti-HPV a été possible seulement à partir des années 1990 avec la découverte des pseudoparticules virales (VLP : Virus Like Particles). On a observé que la protéine L1 avait la capacité spontanée de s'auto-agencer dans les cellules eucaryotes pour former une enveloppe sphérique tout à fait semblable à celle du virus (figure 13) (Peter Öhlschläger; 2009). Ces pseudoparticules virales ressemblent donc au virus sans contenir son matériel génétique. De ce fait, une fois inoculées, elles ne provoquent pas la maladie mais en revanche, suscitent une réaction immunitaire en trompant le système immunitaire qui les reconnaît comme des virus. C'est de cette innovation importante basée sur la production des VLP qu'est né le principe de vaccination contre les papillomavirus (Rappillard, 2010).

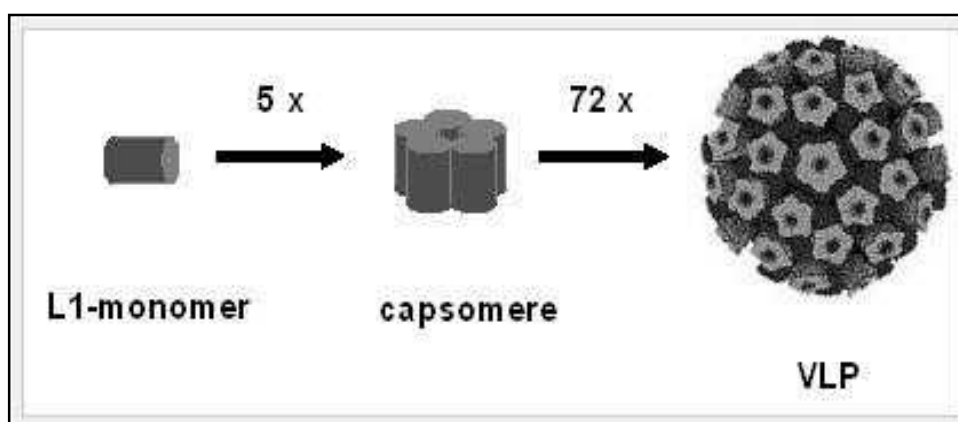


Fig. 13: Transformation de la protéine L1 en VLP

(Peter Öhlschläger; 2009)

8. 2. Fabrication des VLP (pseudo particules virales)

Il s'agit donc de produire une capside entière composée de l'assemblage de la protéine majeure L1 de l'enveloppe virale des HPV. Les VLP sont produites par génie génétique *in vitro* : on introduit le gène L1 dans différentes cellules

eucaryotes (insectes, levures...) (figure 14) (Monsonogo, 2007). Le Gardasil® est produit sur levures (*Saccharomyces cerevisiae*), le Cervarix® sur cellules d'insectes (système baculovirus) (Rappillard, 2010).

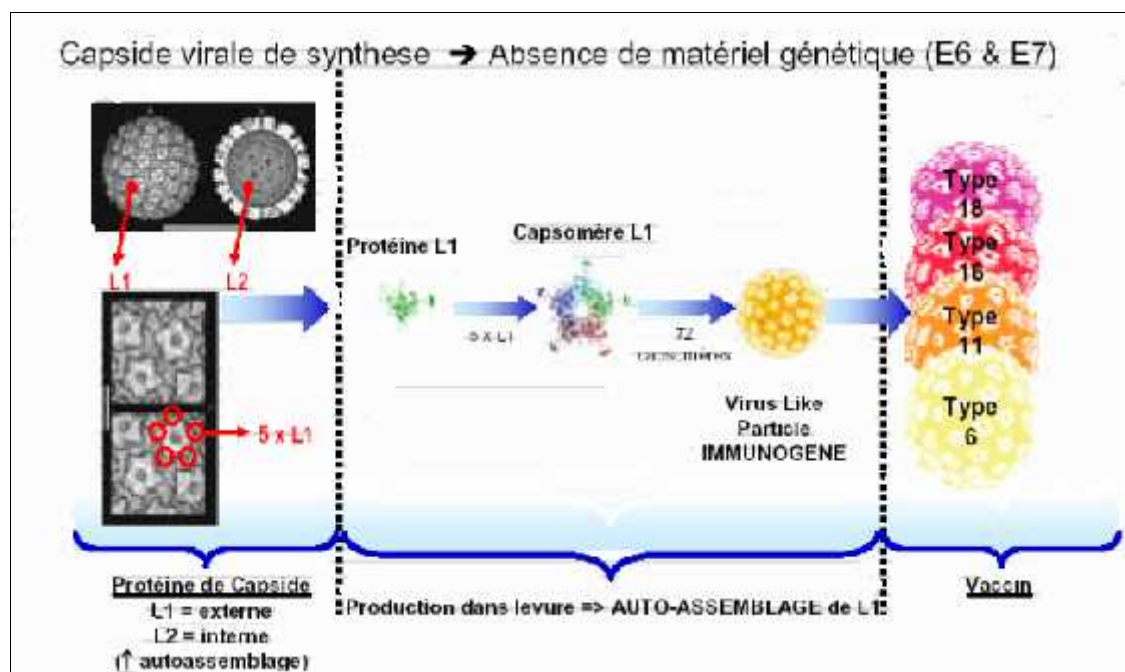


Fig. 14 : Fabrication du vaccin anti HPV (Monsonogo, 2007)

8. 3. Mécanisme d'action du vaccin

Le but de ces vaccins prophylactiques est de produire des titres élevés d'anticorps qui pourraient neutraliser les particules virales avant leur entrée dans l'épithélium épidermoïde de la zone de transformation du col utérin, prévenant ainsi l'acquisition d'une infection à HPV. Ces anticorps sont produits en réponse à l'injection des VLP contenus dans le vaccin et sont donc dirigés contre la protéine L1 du virus.

La vaccination se faisant par voie parentérale, les anticorps sériques vont atteindre la muqueuse vaginale par transsudation (figure 15), afin de neutraliser les virus introduits localement lors de rapports sexuels. S'il y a alors contamination par un HPV, le virus va pénétrer au niveau de la cavité vaginale et les anticorps

neutralisants vont aller se fixer sur les déterminants L1 de la capsid virale et ainsi empêcher l'infection des cellules basales par le virus (Rappillard; 2010).

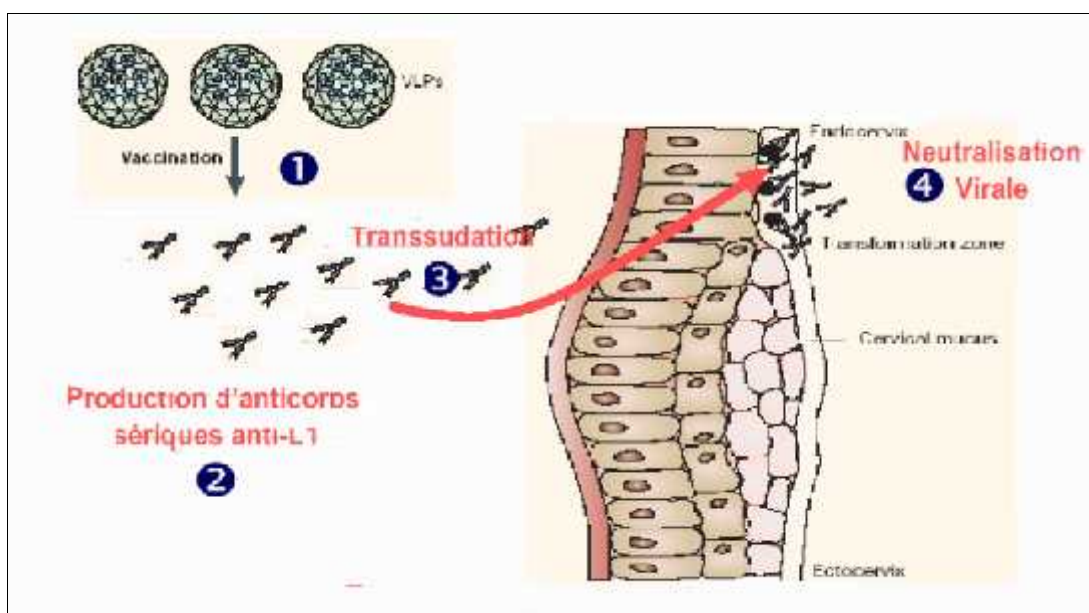


Fig. 15 : Mode d'action du vaccin anti HPV (Monsonogo, 2007)

L'immunité conférée par les VLP est systématique et très élevée, beaucoup plus intense que celle induite par une infection naturelle. L'immunisation par voie intramusculaire conduit ainsi à une synthèse d'anticorps (IgG) reconnaissant la particule virale native, ces anticorps ont un titre sérique extrêmement élevé après vaccination, de l'ordre de 80 à 200 fois le taux d'anticorps naturels obtenus après une infection (Bourgault-Villada, 2013).

8.4. Les vaccins antipapillomavirus présents sur le marché

Depuis 2006, deux vaccins contre l'infection et les maladies associées aux HPV ont reçu les autorisations des structures responsables de la santé publique dans plus de 100 pays. Ces vaccins prophylactiques sont destinés aux jeunes femmes âgées de 9 à 26 ans, et leur administration est recommandée avant le premier rapport sexuel. Ces vaccins prophylactiques qui sont utilisés actuellement dans les pays développés sont : Gardasil® et Cervarix® (figure16).

- **Gardasil® (Sanofi Pasteur MSD)**

Le Gardasil® est un vaccin VLP recombinant quadrivalent dirigé contre les HPV 6, 11, 16 et 18, permettant de protéger à la fois contre le cancer du col de l'utérus (HPV 16 et 18) et contre les condylomes acuminés (HPV 6 et 11, impliqués dans 90 % des condylomes), développé par Merck & Co et commercialisé en Europe par Sanofi Pasteur MSD (Rappillard, 2010).

- **Cervarix® (GSK)**

Le Cervarix® est un vaccin recombinant bivalent, dirigé uniquement contre les HPV 16 et 18, ciblant la protection contre le cancer du col utérin, développé par GlaxoSmithKline (GSK) (Rappillard, 2010).



Fig. 16 : Les deux vaccins anti HPV disponibles sur le marché (Rappillard, 2010)

Ces deux vaccins ne sont pas interchangeables, toute vaccination initiée avec l'un des deux vaccins doit être menée à terme avec le même vaccin.

En 2014, le schéma vaccinal est adapté en fonction de l'âge et du vaccin :

- Vaccine Gardasil® :

entre 11 et 13 ans : deux doses espacées de 6 mois,

entre 14 et 19 ans révolus : trois doses administrés selon un schéma 0,2 et 6 mois ;

- Vaccin Cervix® :

entre 11 et 14 ans : deux doses espacées de 6 mois,

entre 15 et 19 ans : trois doses administrés selon un schéma 0,1 et 6 mois

(Bourgault-Villada, 2013).

Dans les pays développés, la vaccination est déjà mise en place avec de bons résultats. Dans les pays émergents, surtout en Amérique latine, un projet pilote de vaccination a donné un résultat presque similaire à ceux obtenus dans les pays développés. L'Inde, le Pérou, l'Ouganda et le Vietnam sont les premiers pays en développement qui ont des projets d'instauration de cette vaccination à large échelle (Ratiarson, 2010).

8. 5. Effets indésirables et surveillance

Les effets secondaires les plus fréquemment observés sont des réactions locales au point d'injection, parfois de la fièvre, et plus rarement des syncopes vaso-vagales justifiant la recommandation d'une surveillance médicale de quinze minutes après la vaccination.

Le plan de gestion des risques de l'ANSM, montre que sept ans après leur mise sur le marché, il n'y a pas d'augmentation du risque de survenue de maladies auto-immunes, en particulier de sclérose en plaque, associée à la vaccination contre les HPV en France (Chemlal et Heard, 2014).

8. 6. Vaccination des garçons

La vaccination des garçons pourrait avoir un double intérêt. D'une part, elle permettrait de diminuer la fréquence des verrues ano-génitales et autres cancers de

l'anus et du pénis, ainsi que des cancers ORL, d'autre part elle participerait indirectement au contrôle des infections à HPV et des maladies génitales et anales viro-induites de leurs partenaires (Riethmuller et Brun, 2010).

La vaccination conjointe des garçons et des filles ne serait efficace qu'en cas de faible couverture vaccinale (Garnett, 2005).

La prévalence des cancers masculins induits par les HPV pourrait être réduite des deux tiers si 90% des filles étaient vaccinées. Une spécialiste australienne D^r Karen Canfell, souligne que la priorité reste la vaccination des filles parce que le cancer du col est la plus lourde des complications de l'infection à HPV, et parce que les partenaires masculins (futurs) bénéficieront en quelque sorte de la vaccination féminine (Health Day News, 2015).

8. 7. Vaccination des patients immunodéprimés

Quant aux sujets immunodéprimés (sujets VIH+ ou recevant un traitement immunosuppresseur), particulièrement exposés au développement de cancer, leur vaccination pourrait être intéressante, mais on manque de données sur leur réponse post- vaccinale (Hantz *et al.*, 2005). Comme avec les autres vaccins, une réponse immunitaire satisfaisante peut ne pas être obtenue chez ces sujets. Bien que l'immunogénicité et l'efficacité de ces vaccins puissent être réduites chez les femmes infectées par le VIH, l'avantage potentiel de la vaccination dans ce groupe est particulièrement important en raison de leur risque accru de maladies liées au HPV, y compris le cancer du col (Rappillard, 2010).

Une étude portant sur 120 enfants infectés par le VIH, âgés de 7 à 11 ans a été menée aux Etats-Unis en 2008. Plus de 99,5% d'entre eux ont présenté des anticorps contre les types 6, 11, 16 et 18 après avoir été vaccinés contre le vaccin quadrivalent. Les titres moyens géométriques des anticorps dirigés contre les quatre types d'HPV ont été plus bas chez les enfants infectés par le VIH que chez les témoins non infectés ayant le même âge, mais ces différences n'ont été statistiquement significatives que pour les types 6 et 18 (OMS, 2009).

Etude

Expérimentale

CHAPITRE III

Matériel et Méthodes

Partie I

Épidémiologie du cancer du col utérin

I. 1. Type d'étude

La première partie du travail consiste en une étude rétrospective descriptive qui s'est déroulée au niveau du service de gynécologie- obstétrique du CHU de Sidi Bel Abbes, et concerne toute une période de dix sept ans allant de 1998 à 2015.

I. 2. Population cible

Nos données ont été collectées à partir des dossiers médicaux des patientes enregistrés entre le 1^{er} Janvier 1998 et le 31 Décembre 2015 dont 210 femmes âgées entre 25 et 85 ans souffrant d'un problème oncologique relatif au cancer du col utérin.

I. 3. Objectif

L'objectif principal de cette étude était de déterminer les différents facteurs de risque associés à la survenue du cancer du col de l'utérus au niveau de notre région de Sidi-Bel-Abbes.

Les paramètres pris en considération sont nombreux à savoir :

- la distribution du nombre de cas par année : fréquence annuelle ;
- le type et le grade histologique ;
- les motifs de consultation ;
- l'âge des patientes ;
- l'âge de mariage ;

- la parité ;
- la prise de contraception orale ;
- les pathologies associées (diabète, HTA, infection génitales, et autres) ;
- les facteurs génétiques ;
- et le niveau socioéconomique.

1. 4. Limites de l'étude

Cette étude présente quelques lacunes dues à une insuffisance au niveau du report des informations dans les rapports trimestriels d'évaluation des activités de dépistage du cancer du col utérin.

1. 5. Supports de données

Les supports de données étaient constitués essentiellement par le questionnaire élaboré pour le programme de dépistage de masse (voir Annexe 11). Les données étaient relatives aux caractéristiques sociodémographiques des participantes, leurs antécédents gynécologiques et obstétricaux, et leur activité génitale ainsi que la prise de contraception hormonale.

1. 6. Analyse des données

Les données recueillies étaient de nature quantitative et qualitative, une analyse descriptive a été réalisée dans une base de données à l'aide d'un support informatique. Les tableaux et les graphiques ont été configurés sur Microsoft Excel® 2007.

Les résultats sont présentés sous forme de propositions (pourcentages) pour les variables quantitatives et exprimés en (moyenne \pm écart type) pour les variables qualitatives.

Partie II

Détection des HPV HR par techniques d'immuno-histochimie et de biologie moléculaire (HC II et PCR)

II. 1. Prélèvements

La deuxième partie de l'étude est un travail de paillasse qui consiste à faire la recherche et la détection des HPV HR par deux types de techniques une conventionnelle : immuno-histochimie et l'autre biologie moléculaire (HC II et PCR).

- ***L'immuno-marquage des l'HPV HR par immuno-histochimie*** cette étude rétrospective consiste à faire la détection des HPV à haut risque oncogène par une technique simple et moins coûteuse sur l'immuno-histochimie de 52 biopsies provenant de patientes âgées entre 38 et 80 ans, présentant des carcinomes épidermoïdes et des dysplasies cervicales administrées entre 2002 et 2008 au niveau du service d'anatomo-pathologie de CHU Abdelkader Hassani de Sidi-Bel-Abbès.

- ***La détection des HPV HR par biologie moléculaire (HC II et PCR)*** cette étude concerne un groupe de prélèvement composé de 115 écouvillons de grattage prélevés chez des femmes présentant une pathologie cervicale provenant de deux services de gynécologie de la région d'Alger : une partie provient du service de Gynécologie du CHU de Zeralda et l'autre partie du service de Gynécologie Obstétrique du CHU de Parnet. Ces dernières ont toutes suscité un examen cyto-histopathologique.

Les prélèvements sont transportés au laboratoire Virus et Cancers (sous la responsabilité de P^f BOUGUERMOUTH), service de Virologie Humaine de l'Institut Pasteur d'Alger (Unité de Sidi-Fredj), dans le milieu de transport (Digène HPV DNA Assay) (figure 17) et sont ensuite conservés à -20°C pour faire ultérieurement la recherche des HPV à haut risque par un test HC2 et par PCR.



Fig. 17 : Milieu de transport (Digène HPV DNA)

Le dépistage des infections à HPV HR est récent rarement réalisé en Algérie. Il repose sur le frottis cervical conventionnel. Les tests détectant l'ADN des HPV restent réservés à quelques laboratoires, ils utilisent un cocktail d'amorces et de sondes spécifiques des HPV HR. Ces tests HPV peuvent être effectués sur prélèvements muqueux (à la cytobrosse) et biopsiques. Les méthodes utilisés sont fondées sur l'hybridation moléculaire directe en milieu liquide ou après amplification de séquences cibles (PCR).

II. 2. Méthodes

II. 2. 1. Technique d'immuno-histochimie

Par définition, l'immunohistochimie ou IHC est une combinaison de l'immunologie et de l'histochimie, qui désigne la méthode de localisation des protéines situées dans les cellules d'un tissu. Cette méthode utilise les anticorps pour détecter les antigènes (Hordé, 2014).

A. Principe

La technique immunohistochimique de marquage du papillomavirus à haut risque utilisée est manuelle, elle est basée sur l'utilisation de l'AC primaire monoclonal anti-HPV (clone K1H8) d'origine animale (souris) spécifique des HPV à Haut risque (type 6, 11, 18, 31, 33, 42, 51, 52, 56 et 58) (voir la fiche du réactif en Annexe 14) et les deux anticorps secondaires Biotine et Streptavidine.

Cette technique consiste à mettre en évidence un antigène (HPV HR) grâce à la fixation d'un anticorps primaire puis celle d'un anticorps secondaire biotinylé. Ce deuxième anticorps fixe ensuite la streptavidine (avidine élaborée par *Streptomyces avidinii*) complexée à la peroxydase grâce à la grande affinité de la streptavidine pour la biotine (voir figure 18).

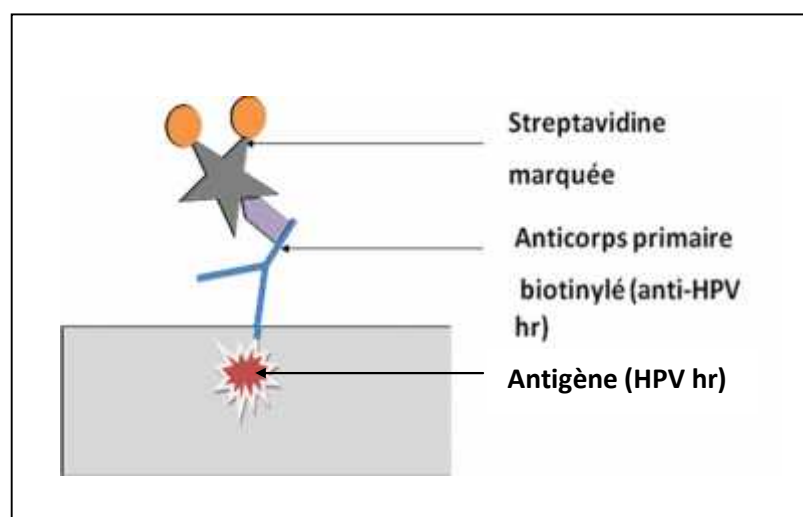


Fig. 18 : Système de révélation biotine-streptavidine anticorps primaire biotinylé (anti-HPV)

B. Etapes de l'immuno-marquage

Les différentes étapes de l'immuno-marquage entreprise sont comme suite :
A partir des blocks de biopsies paraffinées, des coupes semi-fines de 2 à 3µm d'épaisseur ont été effectuées à l'aide d'un microtome (LEICA), puis les étapes suivantes ont été réalisées :

- Après la microtomisation du tissu à étudier, le motif obtenu doit être étalé sur des lames silanisées préparées à l'avance avec du silane (une solution

- prête à l'emploi qui fournit une excellente adhérence avec des lames de microscopes en verre) pour éviter le décollement de la coupe;
- Après étalement, les lames sont mises à l'étuve pendant 24 heures à 40 °C (proche de la température de fusion de la paraffine), ce qui élimine le film liquidien compris entre la lame et la coupe paraffinée;
 - Après Incubation, le déparaffinage est réalisé en trempant les lames dans 4 bains successifs de Xylène ;
 - Ensuite, une réhydratation des tissus est effectuée en trempant les lames dans 4 bains successifs de l'alcool absolu, puis dans deux bains de l'eau distillée ;
 - Après réhydratation, un démasquage des sites antigéniques se fait à une température voisine de 100°C (98°C) pendant environ 40 minutes dans un bain Marie. En effet, ce dernier fixe le calcium qui interviendrait dans le renforcement des liaisons covalentes formées lors de la fixation ;
 - Après refroidissement, un lavage est effectué en trempant les lames dans un bain de l'eau distillée pendant 5 minutes ;
 - Après dessèchement des lames, dans un premier temps des gouttes de l'anticorps primaires : anticorps monoclonal anti HPV (clone : K1H8) ont été réparties sur les différentes lames et laisse incuber pendant deux heures ;
 - Ensuite, un rinçage avec une solution de lavage PBS (phosphate buffered saline) un tampon phosphate contenant du NaCl et du Tween (agent mouillant) a été effectué ;
 - Par la suite, une deuxième incubation, une autre incubation avec l'anticorps biotinylé (ou secondaire) de 30 minutes a été réalisée ;
 - A la fin de l'incubation, un rinçage avec PBS a été réalisé et quelques gouttes de l'eau oxygénée ont été rajoutées et incubées pendant 10 minutes ;
 - Dans un troisième temps et après biotinylation, un bain de la solution de lavage PBS puis une goutte de 2^{ème} anticorps secondaire : Streptavidine a été rajoutée dans chaque lame pendant 20 minutes ;
 - Après lavage avec le tampon PBS, La révélation est réalisée avec de la diaminobenzidine (ou DAB), cette solution chromogène préparée est un

produit toxique, dont l'emploi nécessite des précautions particulières (travail sous hotte, port de gants et décontamination à l'eau de Javel). Son hydrolyse par la peroxydase en présence de H_2O_2 donne un précipité marron insoluble dans les solvants organiques. Les territoires (noyau, cytoplasme, membrane cytoplasmique) ayant fixé l'anticorps primaire sont donc repérables car ils apparaissent colorés en marron. L'incubation dure 30 minutes à 1 heure.

- La contre-coloration est réalisée avec de l'hématoxyline de MAYER qui colore intensément les noyaux en violet ;
- La manipulation se termine par une déshydratation et un montage des lames ;
- Ensuite une lecture des lames se fait grâce à un microscope photonique (voir la fiche technique de l'immuno-marquage : Annexe10).

II. 2. 2. Test Hybrid capture 2 HPV HR (HC2 HPV HR)

A. Principe

Le test ADN Hybrid Capture 2 (figure 19) des HPV à haut risque (HC2) est le test de détection et de typage des HPV HR utilisé en routine dans le laboratoire. Cette technologie HC2 est basée sur la capture d'anticorps par hybridation avec amplification du signal utilisant la détection chimiluminescente sur microplaque. Les échantillons contenant l'ADN cible s'hybrident avec une sonde ARN spécifique au type de HPV. Les hybrides ARN/ADN résultants sont capturés à la surface d'un puits de microplaque revêtu d'anticorps anti-hybrides ARN/ADN spécifiques. On fait ensuite réagir les hybrides immobilisés avec des anticorps anti-hybrides AN-ADN, conjugués à de la phosphatase alcaline, puis on effectue la détection à l'aide d'un substrat chimiluminescent. Chaque anticorps est conjugué à plusieurs molécules de phosphatase alcaline. Plusieurs anticorps conjugués se lient à chaque hybride capturé, ce qui entraîne une amplification substantielle du signal. Quand le substrat est clivé par la phosphatase alcaline liée, une radiation lumineuse est émise qui est mesurée en unités de lumière relative RLU (Relative Light Units)

par un luminomètre. L'intensité de la lumière émise indique la présence ou l'absence d'ADN cible dans l'échantillon.



Fig. 19: Kit du Test Hybrid Capture 2 (Trousse HC2)

Les réactifs et le matériel nécessaires fournis et non fournis par le Kit du test HC2 sont mentionnés dans l'Annexe 15.

B. Etapes de HC2

La méthode HC2 nécessite quatre étapes : dénaturation, hybridation, Capture des hybrides et Détection des hybrides.

a) Dénaturation

Pour cette étape, 500 μ L de réactif de dénaturation (NaOH + Azide de Sodium) ont été distribués dans les tubes d'échantillons et dans les tubes de contrôle afin de séparer les brins d'ADN. La température de dénaturation est augmentée à 65°C pendant 45 min au bain marie.

b) Hybridation

Si la cible virale est présente, une réaction d'hybridation (ou de fusion) se produira entre la cible dénaturée et une sonde moléculaire marquée, spécifique et complémentaire d'ADN, pour l'étape d'hybridation :

- Les tubes ont été vortexés pendant 5 secondes, puis 75 μL de chaque échantillon prélevés ont été mis dans des microtubes.
- Parallèlement, une dilution au 25^{ème} des sondes d'ARN composée de 1 μL de sondes et 24 μL de diluant a été effectuée.
- Ensuite 25 μL de sondes diluées ont été rajoutés dans chaque microtube (l'adition de diluant provoque l'apparition de la couleur jaune dans chaque microtube).
- A la fin de l'incubation, un film adhésif a été mis avant de fermer les microtubes avec les couvercles.
- L'ensemble échantillon et sondes ont été vortexés pendant 5 secondes puis incubés à 65°C pendant 60 minutes.

c) Capture des hybrides

- Après incubation, les microtubes sont refroidis pendant 5 minutes à température ambiante, puis les échantillons ont été transférés dans des cupules contenant des anticorps anti-hybrides.
- Après la mise d'un film adhésif, les cupules ont été incubées sous agitation pendant une heure à température ambiante.
- A la fin de l'incubation, le contenu des cupules a été vidé (en gardant la plaque inversée, décantée sur papier absorbant).

d) Détection des hybrides

- 75 μL de réactif de détection I (un anticorps anti hybride conjugué à une enzyme phosphatase alcaline) ont été rajoutées dans chaque cupule ;
- Ensuite la plaque a été incubée à 25°C pendant 45 minutes (sans agitation) ;
- Après avoir vidé le contenu de la plaque, six lavages ont été effectués avec le tampon de lavage PBS ;
- Puis la plaque a été égouttée sur du papier absorbant pendant 5 minutes.
- En fin, 75 μL de réactif de détection II pour la réaction de chimioluminescence (substrat de l'enzyme chimioluminescent) ont été rajoutés.

J) *Interprétation des résultats*

La lecture est informatisée avec un luminomètre (DML2000) et un logiciel spécifique pour la technique HC II.

Les échantillons retrouvés avec des valeurs de rapport RLU/PC ≥ 1 sont considérés comme positifs pour au moins un type d'HPV à haut risque.

Les échantillons ayant des valeurs de rapport RLU/PC < 1 sont considérés comme négatifs ou non détectables pour les 13 types d'HPV testés. La séquence d'ADN recherchée est absente ou la quantité d'ADN de ce type d'HPV est inférieure au seuil de détection de la technique.

RLU : Unité de Lumière Relative

PC : Positif contrôle

II. 2. 3. Amplicor HPV test (PCR)

C'est un test qualitatif *in vitro* qui permet la détection du virus HPV dans des échantillons cliniques, pour permettre l'identification des géotypes d'ADN des HPV HR : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68 dans des cellules cervicales prélevés en milieu liquide. Ce test utilise la méthode d'amplification de l'ADN cible appelée réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ainsi qu'une hybridation de l'anticorps nucléique, avec utilisation de β globine comme témoin cellulaire (figure 20).



Fig. 20 : Amplicor HPV Detection Kit

A. Principe

Ce test comporte quatre procédés :

- la préparation des échantillons ;
- l'amplification de l'ADN cible par PCR à l'aide d'amorces complémentaires spécifiques d'HPV HR ;
- l'hybridation des produits amplifiés à des sondes oligonucléotidiques ;
- et la détection des produits amplifiés liés aux sondes par développement d'une coloration.

B. Etapes de la technique

a) Préparation des réactifs :

- Déterminer le nombre de tubes et les placés dans un plateau microamp ;
- Préparer le mélange (150 μ L de HPV Mg Cl₂ dans le flacon de HPV MMX ;
- Le tube rebouché est mélangé 10 à 15 fois puis conservé entre 2°C et 8°C.

b) Dans une haute nettoyée avec les UV et l'eau de javel (figure 21) :

- En premier temps, 80 μ L d'ATL (tampon de lyse cellulaire) ont été rajoutées dans chaque tube ;
- Ensuite, 250 μ L de chaque échantillon ont été mis dans chaque tube
- Après, 20 μ L de PK ont été rajoutés dans chaque tube puis vortexés
- A la fin de l'incubation des tubes pendant 30 minutes à 56°C, un tampon actif a été préparé, composé de 0,04 mL de AL (tampon de lyse) pour un échantillon et 4 mL AL pour 12 échantillons ;
- Après préparation du tampon actif, 250 μ L de ce dernier ont été ajoutées dans chaque tube puis vortexées ;
- Après une incubation de 15 minutes à 70°C, les colonnes CLM ont été placées dans des tubes à collection ;
- Après une deuxième incubation identique à la précédente, 300 μ L d'éthanol absolu ont été rajoutés puis mélangés au vortex pendant 5 secondes à vitesse maximale ;

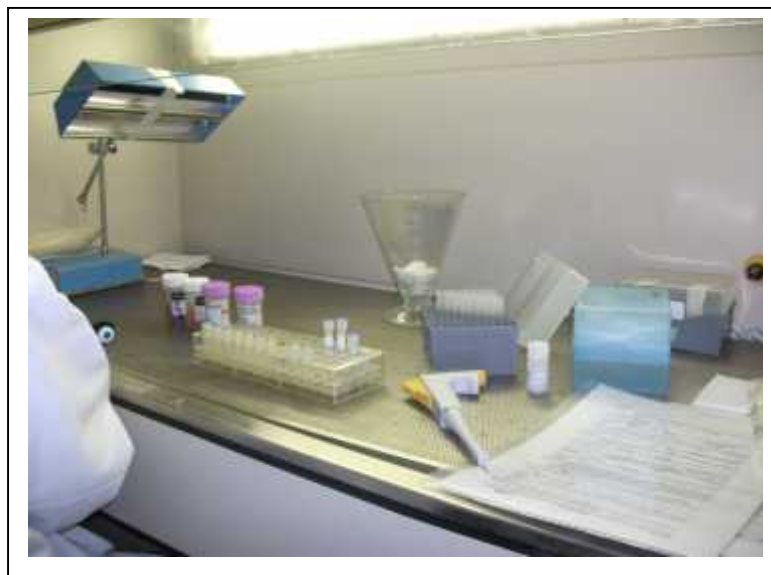


Fig. 21 : Haute à flux laminaire UV

- Les tubes ont été ensuite incubés pendant 5 min puis centrifugés à vitesse maximale ;
- Un transfert de lysat pour chaque tube dans un CLM a été réalisé puis incubé pendant une minute à température ambiante ;
- Les lysats sont aspirés et 700 μL de solution de lavage AW2 ont été rajoutés puis les tubes incubés une minute et centrifugés ;
- Les lysats ont été encore une fois aspirés et centrifugés pendant 3 min ;
- Les EXT (les collecteurs) ont été changés et les tubes sont débouchés ;
- Après une incubation à température ambiante pendant 15 minutes, 120 μL d'AVE ont été rajoutés dans chaque tube ;
- Une autre incubation de 5 minutes et centrifugation à vitesse maximale pendant 1 minute ont été effectuées ;
- Les CLM sont jetés et les ELT sont gardés
- Après préparation du mixte de Mg Cl_2 et les amorces, le même volume de l'échantillon a été rajouté dans chaque tube réactionnel ;
- Ces tubes réactionnels ont été placés dans le thermocycleur (figure 22), puis retirés après 2 heures ;

- 50 μL de dénaturant (NaOH) ont été rajoutés dans chaque tube réactionnel, et incubés à température ambiante pendant 10 minutes puis conservés pendant une nuit au réfrigérateur.



Fig. 22 : Thermocycleur (TC-312)

c) Hybridation des produits de la PCR

Dans d'autres cupules couplés avec de l'HPV globine, la réaction PCR a été effectuée comme suite :

- 100 μL de réactif 1 (détecteur de l'HPV) et 25 μL de l'échantillon ont été rajoutés ;
- Ensuite, 100 μL de réactif 2 (détecteur de globine) et 25 μL de l'échantillon ont été additionnés aux mélange précédent ;
- La microplaque a été protégée avec un film adhésif puis incubée 60 min à 37°C ;
- Les amplicons marqués à la biotine et les amplicons marqués à la globine sont hybridés avec des sondes oligonucléotidiques liées aux puits de détection ;
- Après hybridation, la microplaque est rincée pour retirer la matière non liée ;

- Un conjugué avidine-péroxydase de raifort a été rajouté dans chaque puits de détection qui se lie aux amplicons marqués à la biotine (AV-HRP) ; la couleur vire vers le jaune.
- Cinq bains avec solution de lavage Roch prête à l'emploi, ont été effectués
- 100 μ L d'AV-HRP ont été ajoutés dans chaque puits et la microplaque été recouverte de nouveau avec un film adhésif puis conservée 15 min à 37°C ;
- Le substrat composé de 2 mL de Sub A et 0.5 mL de Sub B a été préparé, puis laissé reposer 15 min à l'obscurité ;
- Cinq lavage de la microplaque ont été nécessaires avant d'ajouter 100 μ L de substrat actif ;
- Une incubation de 10 minutes à température ambiante dans l'obscurité a été suffisante pour l'apparition de la coloration ;
- Enfin, 100 μ L de STOP [s] ont été ajoutés dans chaque puits.

) *Interprétation des résultats*

La lecture est informatisée en mesurant la densité optique (DO) avec un spectrophotomètre (voir figure 23).

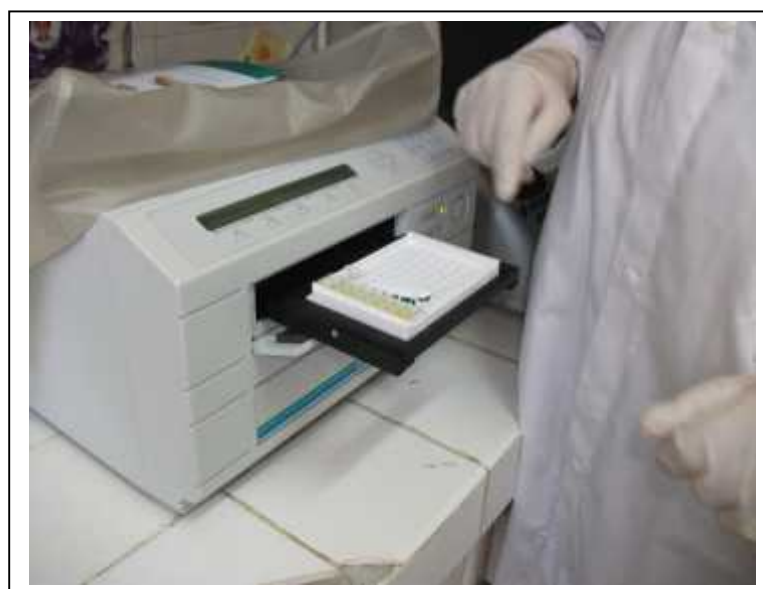


Fig. 23 : Spectrophotomètre (BAYER)

CHAPITRE IV

***Résultats et
Discussion***

Partie I

Épidémiologie du cancer du col utérin

*Cette étude a fait l'objet d'un article accepté pour la publication dans une revue internationale indexée **EJSR : European Journal of Scientific Research** (Annexe 17)*

Notre première étude est portée sur un échantillon de 210 patientes âgées entre 25 et 85 ans, hospitalisées au niveau du service de gynécologie obstétrique de CHU de Sidi-Bel-Abbès pour un cancer du col utérin, recrutées entre 1998 et 2015.

Après l'étude des dossiers archivés de ces patientes, un ensemble de résultats ont été déterminés et sont décrit ci-dessous.

I. 1. Distribution des cas de cancer du col utérin entre 1998 et 2015

L'analyse de la distribution du cancer du col de l'utérus au cours de la période 1998 et 2015 montre que la fréquence de ce cancer diminue progressivement avec des fluctuations passant de 22 à 4 cas, en effet 13 cas ont été enregistrés en 2000 puis une augmentation atteignant 19 cas a été obtenue en 2003 pour chuter en 2006 jusqu'à 5 cas. Puis de nouveau une augmentation a été notée entre 2008 et 2011 et finalement la fréquence de ce cancer a diminué sensiblement durant les quatre dernières années avec 4 cas seulement enregistrés en 2015 et 2 cas en 2012 (voir figure 24).

Ces variations de fréquence des cas de cancer cervical semblent être dues aux campagnes de dépistage systématique mis en place par les autorités de santé de notre région, pour la sensibilisation des femmes et le dépistage précoce de ce type de cancer mais qui ont été organisées de façon non régulière.

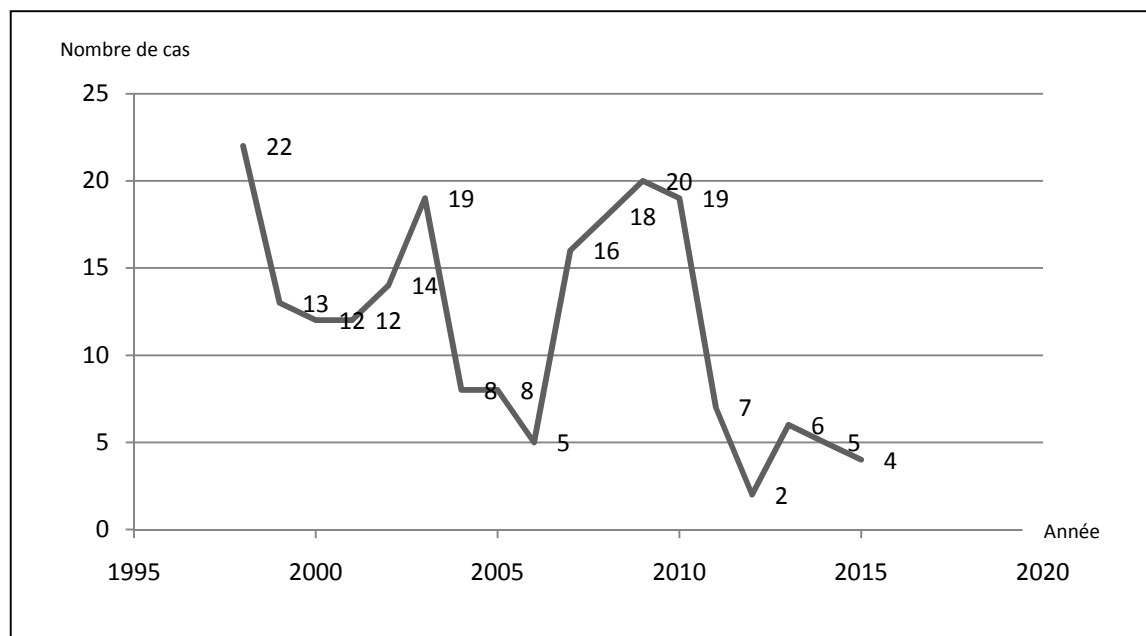


Fig. 24: Nombre de cas du cancer du col utérin au sein de CHU de SBA entre 1998 et 2015

I. 2. Le type et le stade histologique de la lésion

Les résultats obtenus montrent que, dans notre série, le carcinome épidermoïde représente la majorité (96,2 %) des cas, le reste (3,8%) sont des adénocarcinomes (figure 25). La majorité des cas (82,42) a dépassé le premier stade de la maladie dont 17,58 % seulement n'ont pas franchis le stade I et plus que un tiers (36,48%) atteint le stade II (Tableau 3, Annexe 12 et 13). Ce pourcentage élevé de cancers invasifs montre qu'il s'agit d'une consultation tardive de la part de ces patientes.

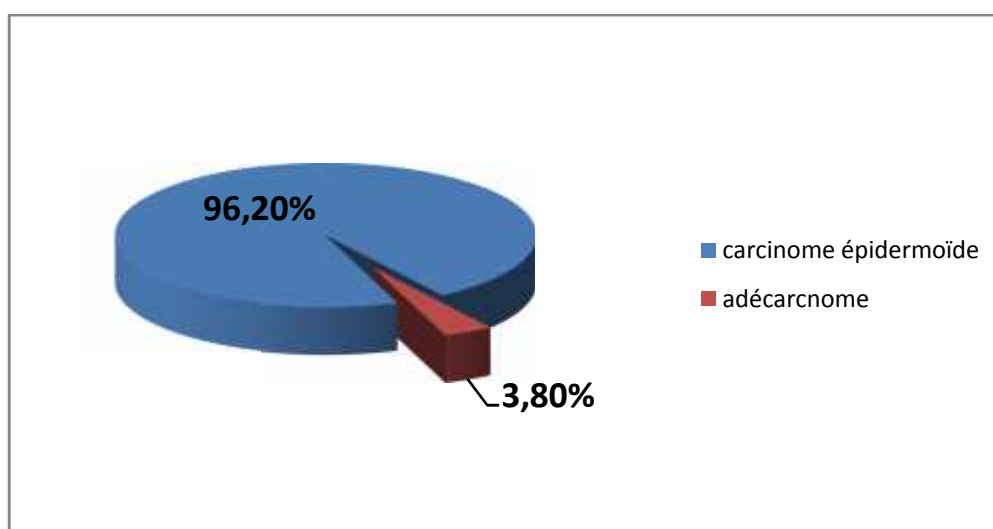


Fig. 25 : Répartition des cas selon le type histologique

Tableau 3: Répartition des cas selon le stade de classification FIGO (2009)

Classification FIGO (2009)	Nombre de cas	Fréquence
Stade I	37	17,8%
Stade II	76	36.48%
Stade III a	24	11.46%
Stade III b	30	14.16%
Stade IV a	25	11.9%
Stade IV b	18	8.4%

1. 3. Les motifs de la consultation

Souvent le cancer du col ne provoque aucun symptôme physique notamment lors des stades précoces de la maladie. Un cancer du col de stade avancé peut toutefois provoquer des douleurs pelviennes, pertes vaginales de couleur anormale, saignement ...

Les principaux motifs de consultation chez nos patientes, sont indiqués dans le tableau 4 qui montre que les pourcentages des métrorragies et des douleurs pelviennes étaient respectivement de 49,52% et 24,28%. Les saignements peuvent être associés à des douleurs pelviennes dans 20,47% des cas, et les leucorrhées représentent le motif de consultation le plus faible avec 0,95% des cas.

Tableau 4 : Signes cliniques relevés chez les patientes atteintes du cancer cervical recrutées au CHU de SBA entre 1998 et 2015.

Signes	Nombre des cas	Pourcentage
Métrorragie et/ou saignement de contact	104	49,52%
Douleurs pelviennes	51	24,28%
Métrorragie et saignement de contact + douleurs pelviennes	43	20.47%
Irrégularité du cycle	10	4,76%
Leucorrhées	2	0,95%
Total	210	100%

I. 4. L'âge des patientes

La moyenne d'âge de survenue du cancer du col de l'utérus est $50,4 \pm 3,96$ ans avec des extrémités allant de 25 à 85 ans. La tranche d'âge la plus touchée est celle de]50, 55] ans avec 17,14% des cas (soit 36 patientes), suivie par la tranche d'âge]45, 50] ans avec 15,71% des cas. La tranche]40, 45] ans représente 14,76% des cas (figure 26).

La tranche d'âge des femmes ménopausées [45-56] ans représente plus de la moitié (56%) des cas dans notre série, avec une moyenne d'âge de $50,4 \pm 3,96$ ans.

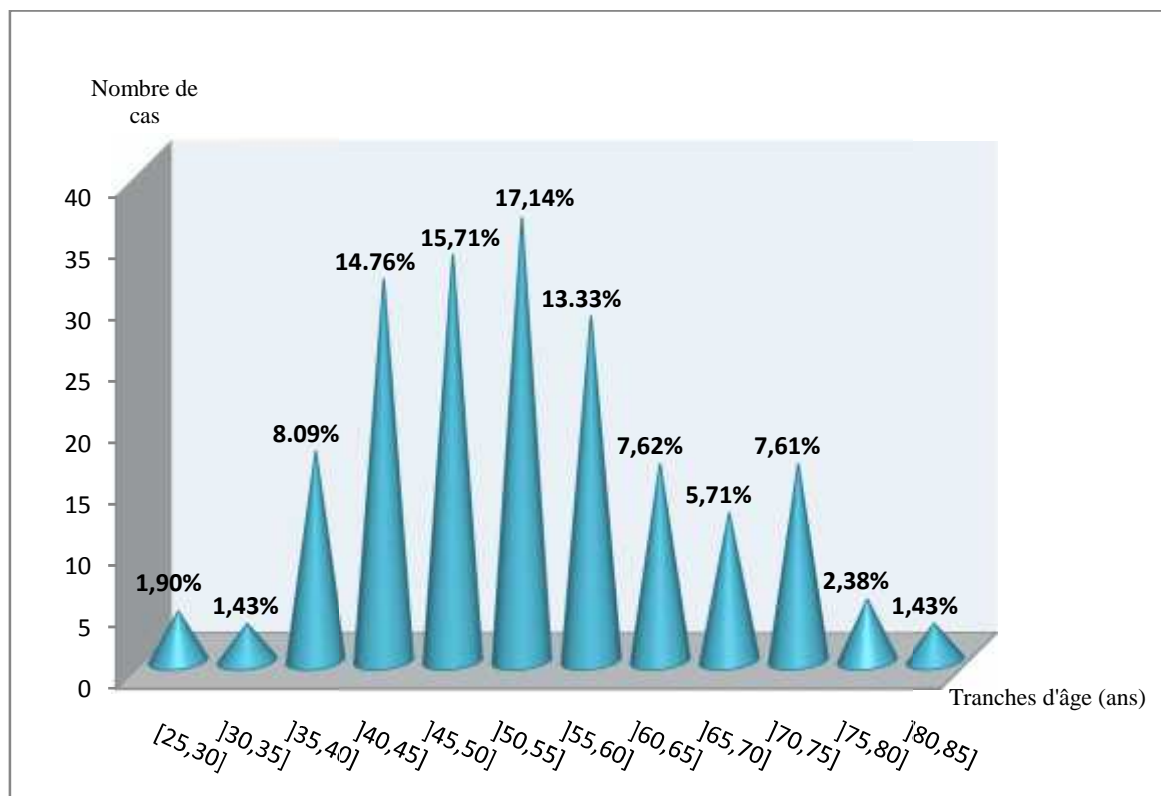


Fig. 26: Répartition des cas selon la tranche d'âge des patientes

I. 5. Situation matrimoniale

Concernant la situation matrimoniale des patientes atteintes du cancer cervical, c'est le statut marital qui prédomine avec une fréquence de 88% des cas de notre série, suivi par la catégorie des veuves avec 8,09 % des cas. Les divorcées représentent 2,38% des cas et le taux le plus faible est celui des célibataires avec 1,43% des cas (Figure 27).

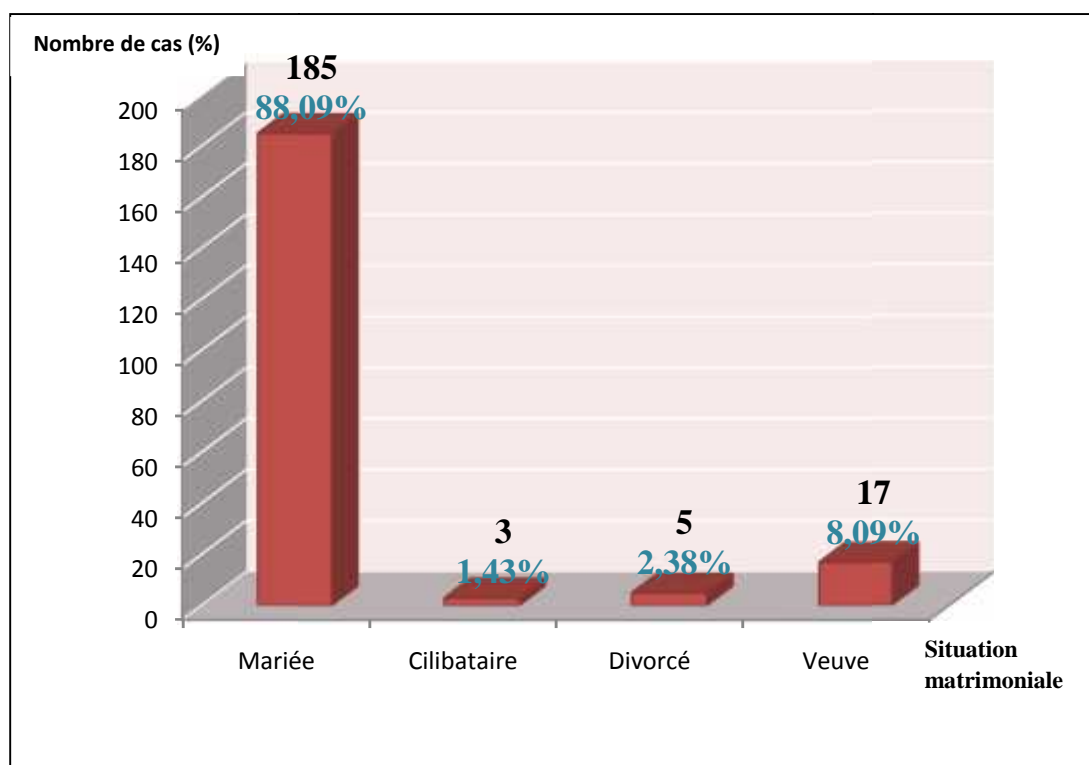


Fig. 27: Répartition des patientes selon la situation matrimoniale

I. 6. L'âge de mariage

En ce qui concerne l'âge de mariage de nos patientes, seulement 123 cas leur âge de mariage a été mentionné dans les dossiers médicaux.

Parmi les facteurs de risque les plus plausibles ont été signalés, la précocité de l'activité sexuelle et l'âge du premier enfant conçu avant la vingtaine. Le mariage avant l'âge de 21 ans était noté dans 113 cas (soit 91,86% des cas), parmi eux 21,95% ont été mariées entre 12 et 15 ans, 25,20% entre 18 et 21 ans et le plus

grand pourcentage concerne les patientes mariées entre 15 et 18 ans (44,71%) (figure 28).

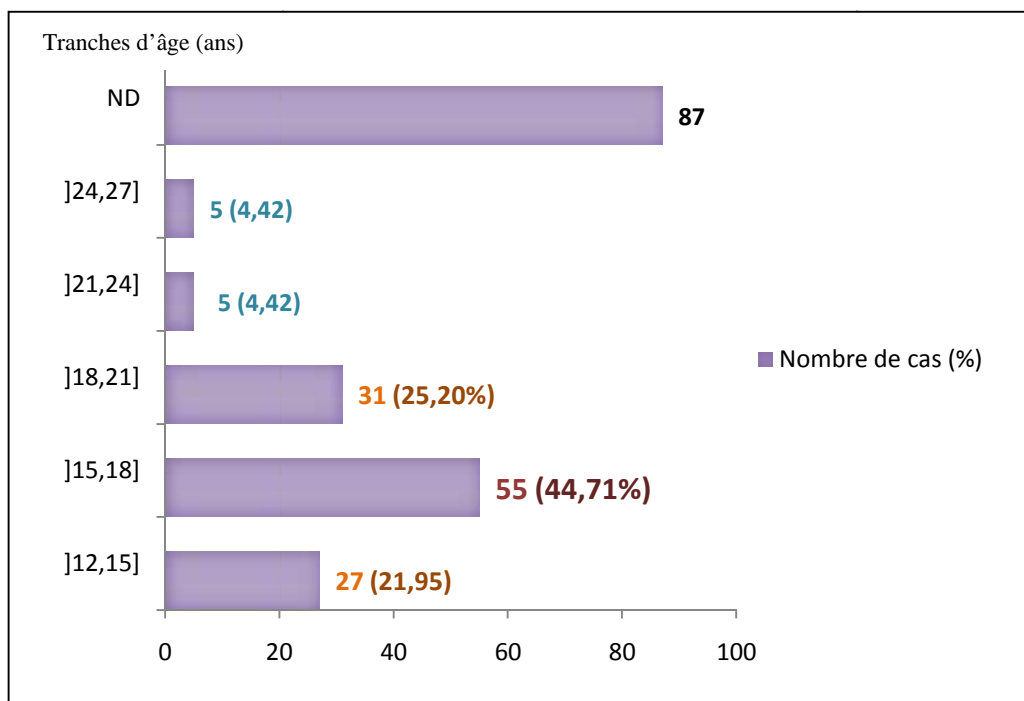


Fig. 28: Répartition des patientes selon l'âge de mariage

ND : Non Déterminé.

I. 7. La parité

Le fait de donner naissance à un bébé, peut aussi accroître le risque que l'infection au VPH et évoluer en cancer du col de l'utérus. C'est parce que les taux d'hormones sexuelles sont élevés lors de la grossesse et le traumatisme provoqué par l'accouchement qui sont incriminés.

Les résultats de notre étude montrent que la parité des femmes dans notre série varie de 0 à 8. Plus que la moitié (125 femmes) sont de grandes multipares avec 60 % des cas, 68 sont des paucipares soit 32% des cas, 6 cas de primipares et 11 cas de nullipares (figure 29).

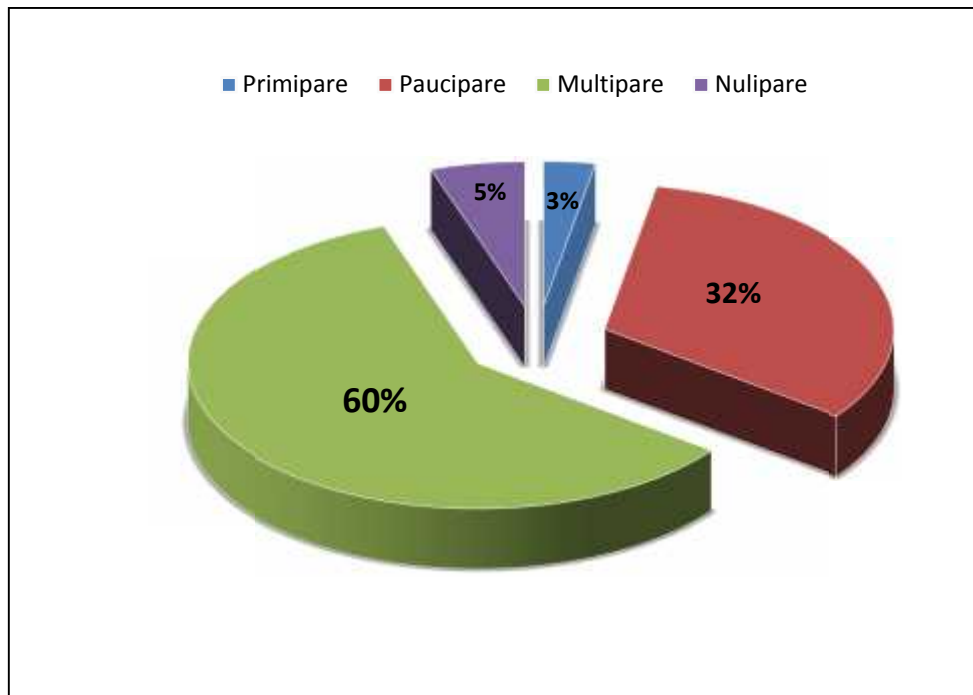


Fig. 29: Répartition des patientes selon la parité

I. 8. La prise de contraception hormonale

Certains auteurs pensent que l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux pourrait être associée à un risque légèrement accru du cancer du col et le risque serait de 100% pour une utilisation de 10 ans et plus (Smith *et al.*, 2003).

Notre étude indique que la prise de contraception hormonale a été positive dans plus de deux tiers des cas, (144 patientes) soit 69% des cas (figure 30).

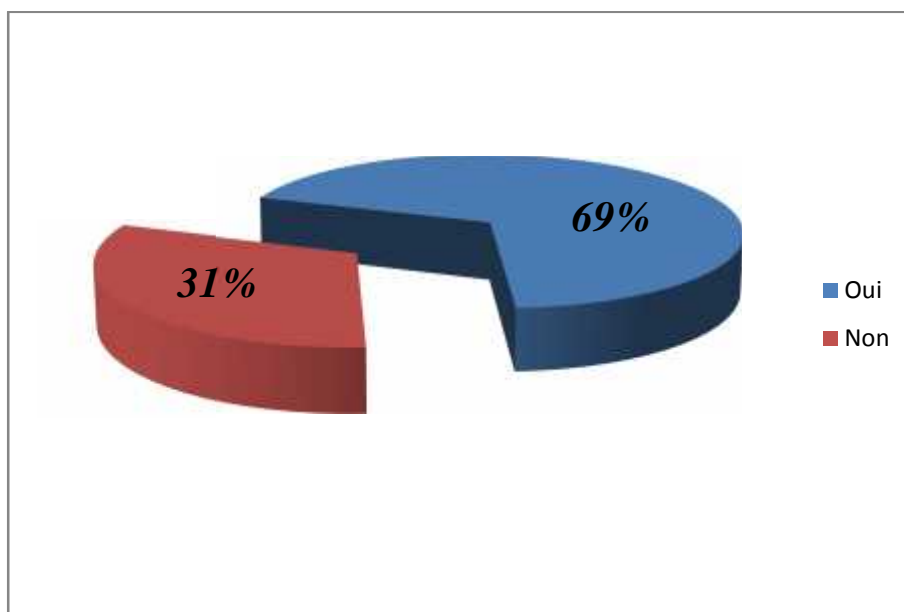


Fig. 30: Répartition des cas selon la prise de contraceptifs oraux

I. 9. Les antécédents médicaux (ATCM)

Jusqu'à présent, aucune étude n'a établi une relation entre le cancer cervical et l'apparition d'autres pathologies tels que l'hypertension artérielle (HTA), diabète, maladies cardiaques... .

Les résultats de notre étude montrent que l'apparition de certaines pathologies associées les plus incriminés et sont principalement l'HTA avec 29 cas (13,81%), 11 cas de diabète (5.24%), 5 cas (2.38%) avec antécédents d'infections sexuellement transmises de type fongique. Il faut noter que 22 cas (10,47%) signalent la présence d'autres maladies comme : le goitre, les Kystes, les maladies cardiaques, la lithiase vésiculaire, la lithiase rénale, le fibrome utérin, la tumeur ovarienne, la néoplasie du sein, et la leucémie aigue ... (figure 31).

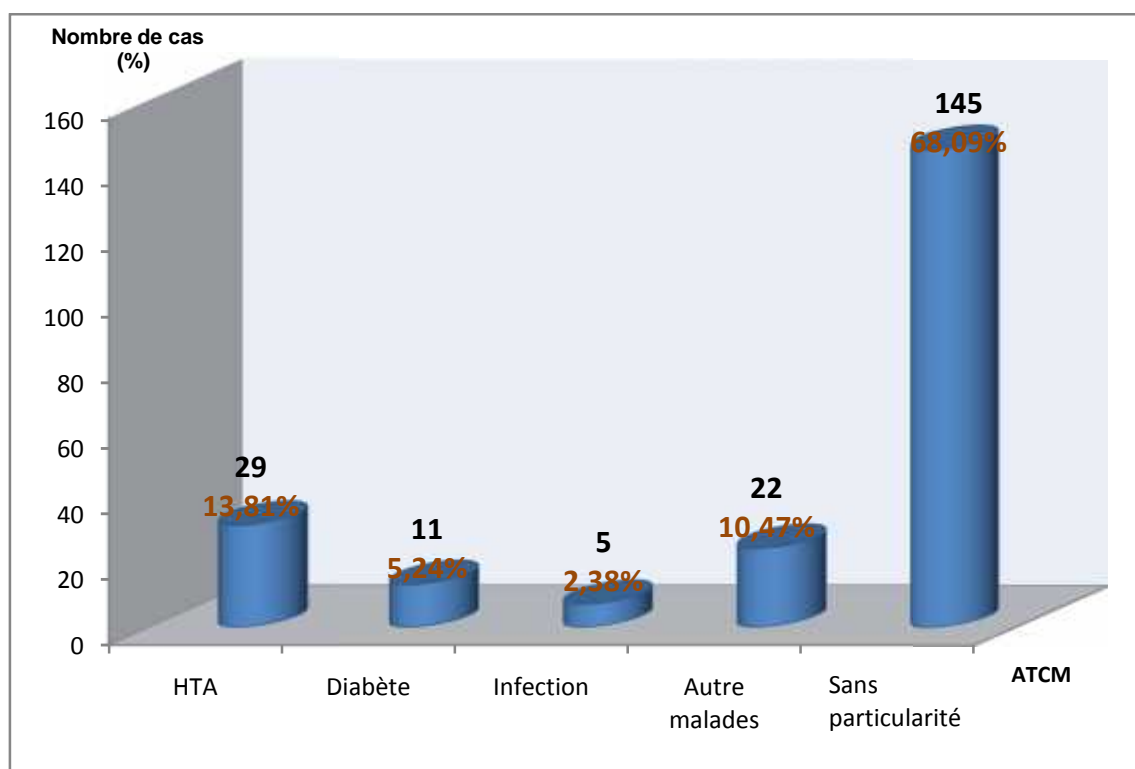


Fig. 31 : Répartition des patientes selon les antécédents médicaux

I. 10. Les facteurs génétiques

Quelques rares auteurs font état de la possibilité d'un facteur familial du cancer du col utérin (Lemaitre, 1992).

Notre étude a montré qu'il n'y a eu que deux cas (0,85%) qui présentaient un terrain héréditaire (Sœur et mère atteintes d'une néoplasie du col utérin).

D'après certaines études, les femmes dont la mère ou la sœur a été diagnostiquée d'un cancer du col de l'utérus sont plus à risque d'être atteintes de ce cancer que les femmes qui n'ont pas d'antécédents familiaux. D'autres recherches sont nécessaires pour clarifier si la génétique ou les facteurs d'habitudes de vie en sont la cause.

I. 11. Niveau socio-économique

Notre étude indique que presque la moitié des patientes (49,52%) vit dans des conditions défavorables avec un niveau socioéconomique bas (figure 32).

Il faut noter que la profession des patientes et celles de leurs conjoints ont été pris comme paramètres.

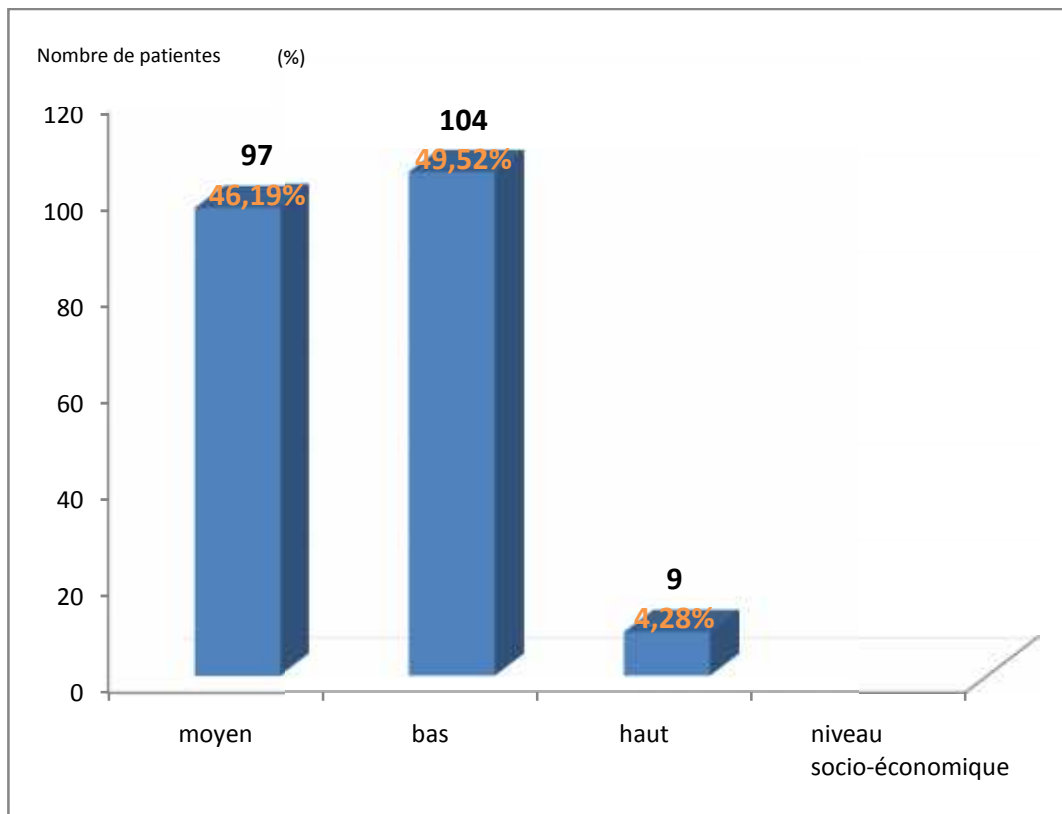


Fig. 32: Répartition des patientes selon le niveau socio-économique

Partie II

Détection des HPV HR par technique immuno-histochimie et biologie moléculaire (HC II et PCR)

*Une partie de cette étude a fait l'objet d'un article original publié dans une revue internationale indexée **Ann. Afr. Med. : les Annales Africaines de Médecine** (Annexe 18)*

Cette deuxième partie est un travail de paillasse qui consiste à faire la détection des HPV HR par deux types de techniques : immuno-histochimie et biologie moléculaire (HC II et PCR).

Après réalisation de l'immuno-histochimie sur 52 biopsies provenant des femmes atteintes de carcinome épidermoïde et de dysplasie cervicale au niveau du service d'anatomopathologie de CHU de Sidi Bel Abbes et l'application du test HCII et la PCR sur 115 prélèvements gynécologiques provenant des femmes de la région d'Alger, nous avons pu constater un ensemble de résultats qui sont décrits ci-dessous.

II. Résultats de l'immuno-marquage de l'HPV

Cette étude consiste à faire la recherche des HPV à haut risque (HPV HR) par immuno-histochimie chez 52 femmes atteintes de carcinome épidermoïde et de dysplasie cervicale au niveau du service d'anatomopathologie de CHU de Sidi Bel Abbès.

II. 1. Répartition des cas en fonction des tranches d'âge

Nous avons effectué l'immuno-marquage de 52 biopsies provenant des patientes âgées entre 38 et 80 ans avec un âge moyen de $56 \pm 3,18$ ans. La majorité de ces patientes (88,46 %) sont âgées entre 41 et 70 ans avec un pic de 36,54 % (19 cas) chez les femmes entre 51 et 60 ans (figure 33).

Il faut noter qu'un faible taux de femmes (5,77%) ont montré un immuno-marquage à l'HPV et concerne particulièrement les tranches d'âges extrêmes 30 - 40 et 71 - 80.

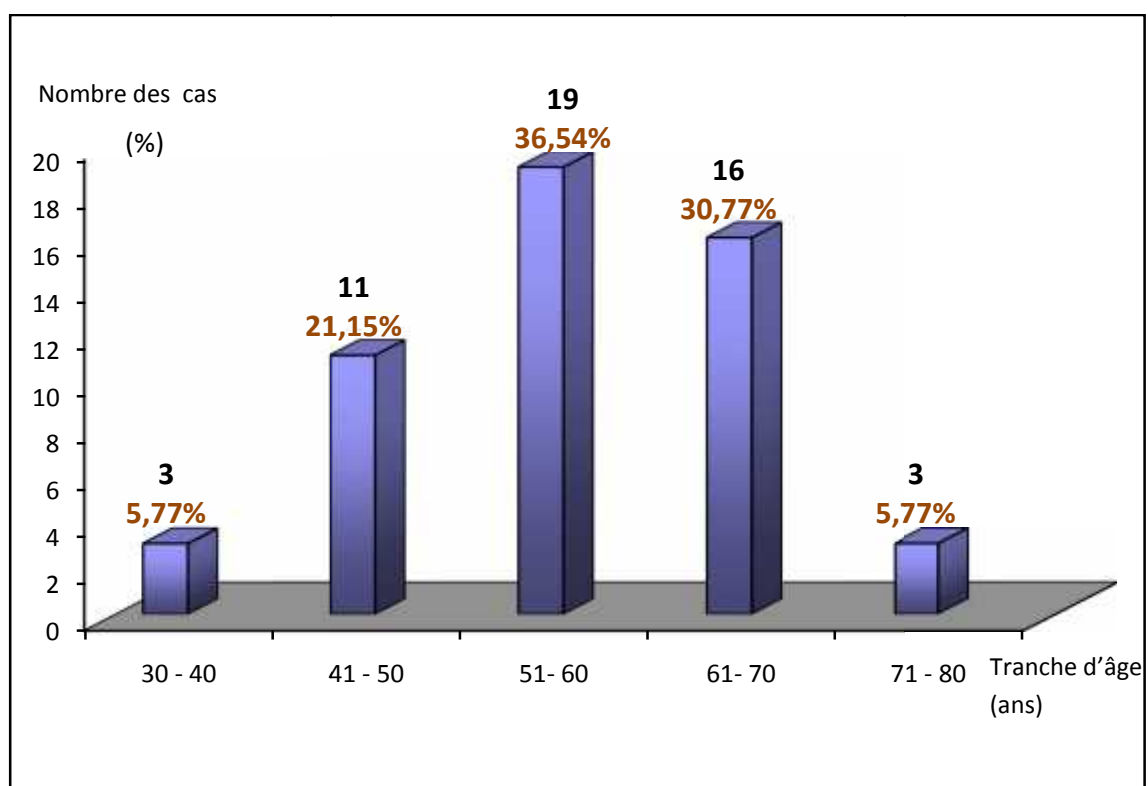


Fig. 33 : Répartition des cas en fonction des tranches d'âge

II. 2. Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'examen histopathologique

L'immuno-marquage des HPV HR a concerné 52 biopsies du col utérin, dont 33 cas carcinomes épidermoïdes et 19 cas dysplasies cervicales enregistrés entre 2002 et 2008. L'examen histopathologique a montré que la tranche d'âge la plus affectée par le carcinome épidermoïde est celle de 51-60 ans (21,15%) suivie par celle de 61-70 ans avec un taux de 19,23%, pour le taux de CIN I qui est respectivement de 13,46% et 5,77%, pour les CIN II et CIN III, il est de 1,92% et 3,85% pour les même tranches d'âge (figure 34) (voir Annexe 15, Tableau 5).

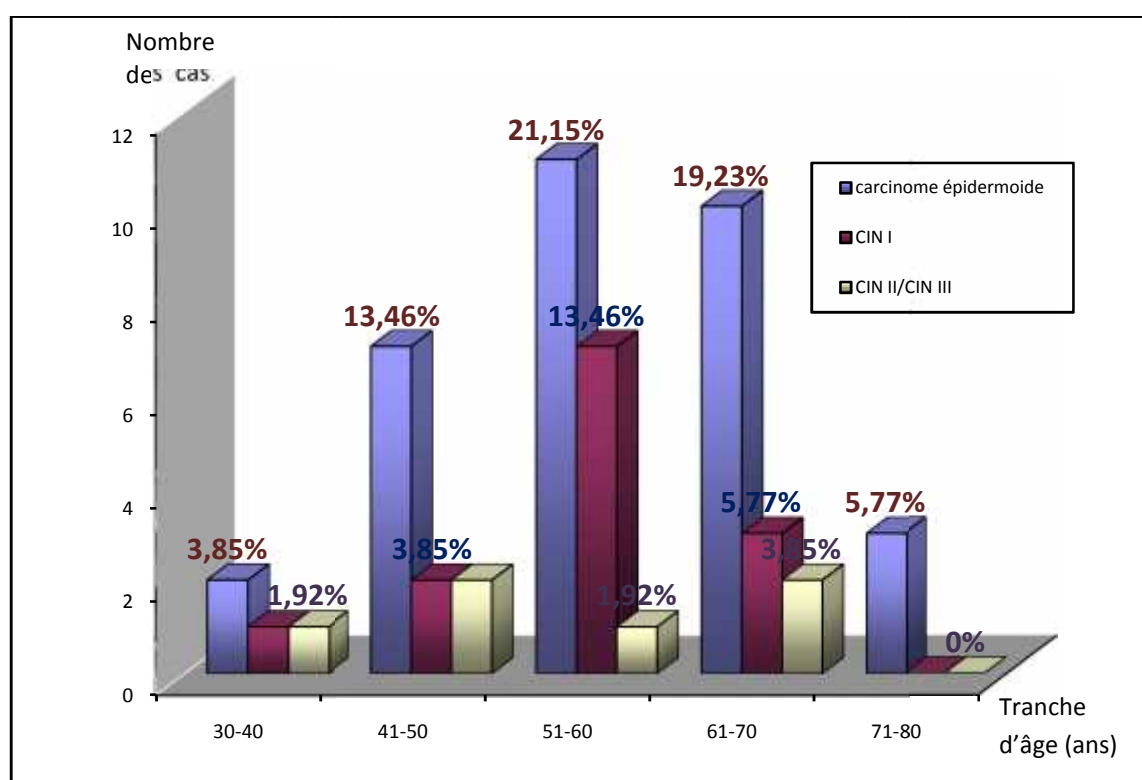


Fig. 34 : Répartition des cas en fonction de l'âge et du grade de la tumeur

II. 3. Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité du marquage

La recherche par immunomarquage des HPV HR au niveau des carcinomes épidermoïdes était positive dans 30 cas (90,91%) dont 22 cas (66%) faiblement positifs et 4 cas (12%) fortement positifs. La recherche virale était négative dans 3 cas soit 9,09% des cas (figure 35) (Annexe 15, Tableau 6).

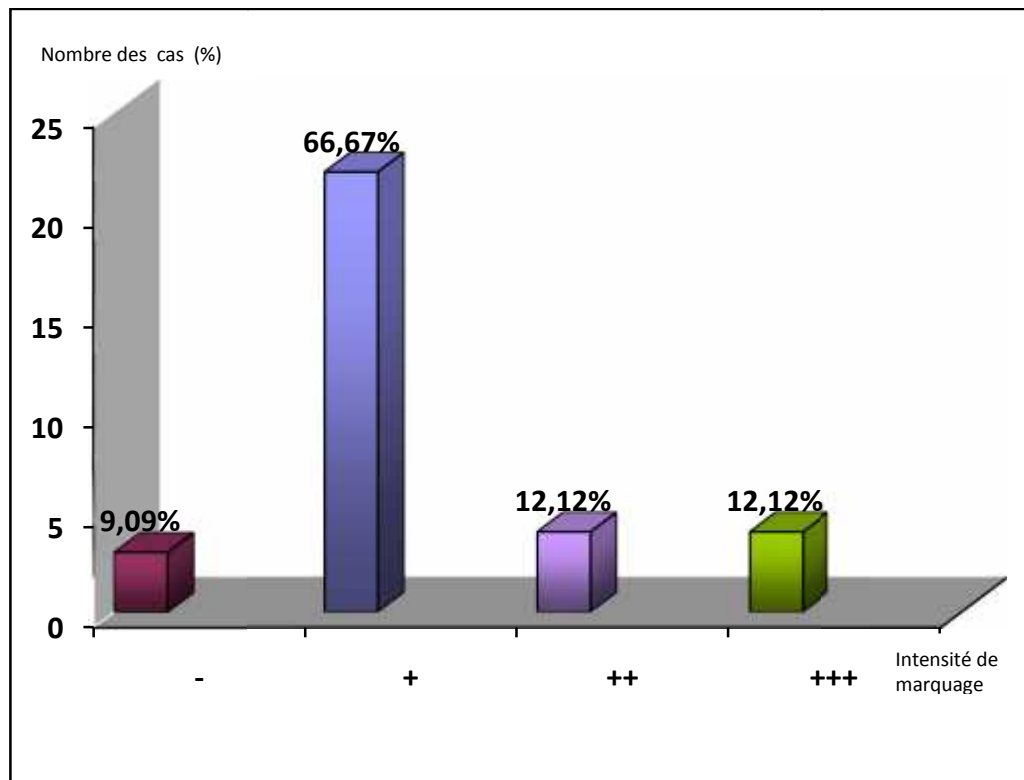


Fig. 35 : Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie

II. 4. Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage

Dans l'étude de dysplasies cervicales, 16 cas (84,21 %) se sont révélés HPV HR positifs et 3 cas (15,79 %) négatifs. Parmi les cas positifs ; 8 cas (42,10 %) ont montré un marquage faiblement positif, 5 cas (26,32 %) moyennement positifs et 3 cas (15,79 %) fortement positifs (figure 36), (Annexe 15, Tableau 7).

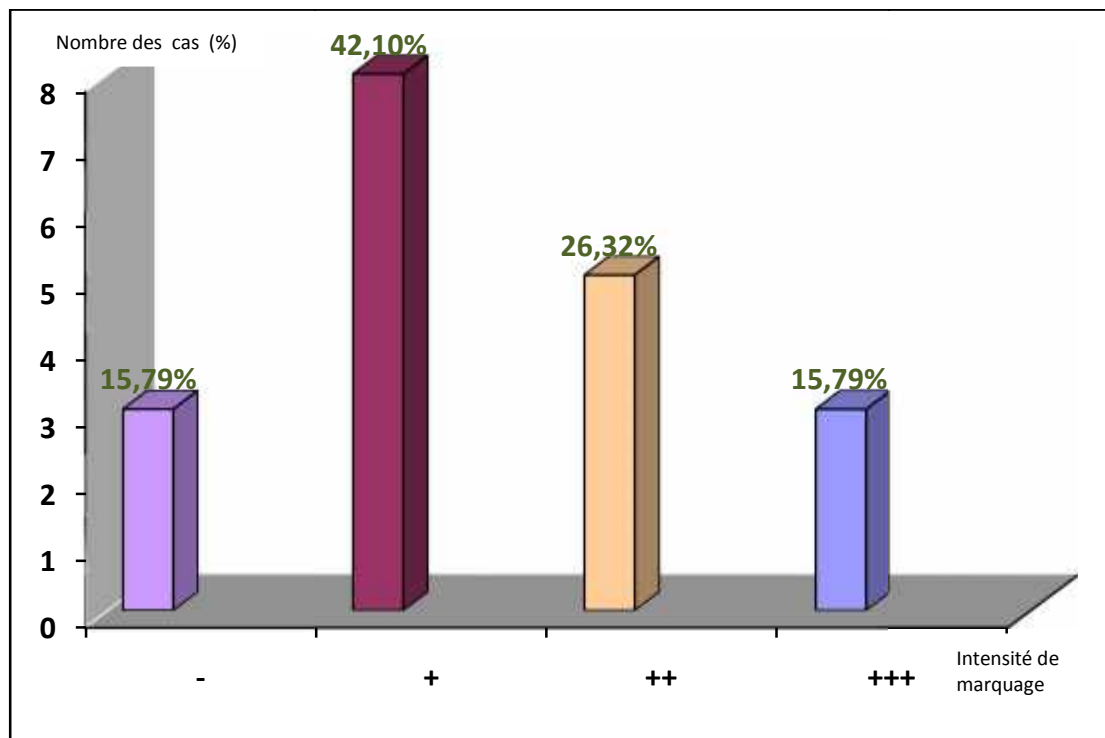


Fig. 36 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie

L'étude immunohistochimique des biopsies montre que le marquage des HPV HR touche principalement le cytoplasme et forme un halot marron autour des noyaux des cellules carcinomateuses (voire planche I).

L'intensité du marquage a été évaluée en fonction du pourcentage de cellules marquées, en retenant comme positif les valeurs supérieures à 10% des cellules marquées. Une intensité de marquage entre 40% et 60% a été considérée comme moyennement positive et au-delà de 60%, elle est suggérée fortement positive.

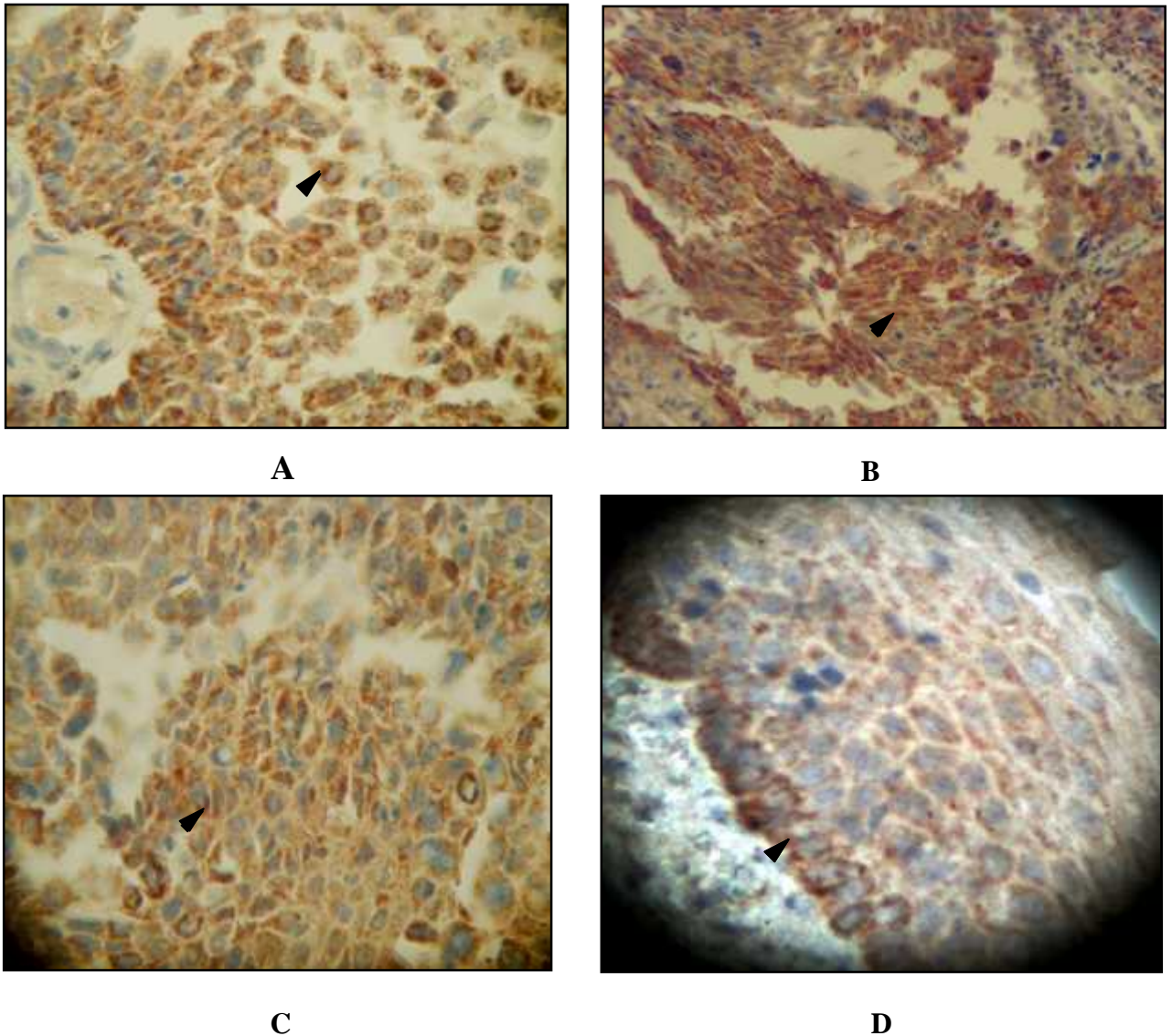


Planche I : Immuno-marquage des HPV HR fortement positif

(A) Coupe histologique d'une biopsie d'un carcinome épidermoïde du col utérin (GX400)

(B) Coupe histologique d'une biopsie d'un carcinome épidermoïde du col utérin avec des cellules fusiformes (GX200)

(C) Coupe histologique d'une biopsie d'un carcinome épidermoïde du col utérin avec polymorphisme nucléaire (GX400)

(D) Coupe histologique d'une biopsie de lésion de haut grade avec immunomarquage fortement positif des cellules basales (GX1000)

◀ *Le marquage des HPV HR est cytoplasmique formant un halot marron autour des noyaux des cellules carcinomateuses*

II. 5. Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique

L'examen de grade histologique a montré que parmi les dysplasies cervicales, 13 cas sont des lésions de bas grade (68 % de CIN I) et 6 cas de lésions sont de haut grade (CIN II et CIN III), Ces dernières représentent 31,58 % des cas de dysplasies (figure 37) (voir Annexe 15, Tableau 8).

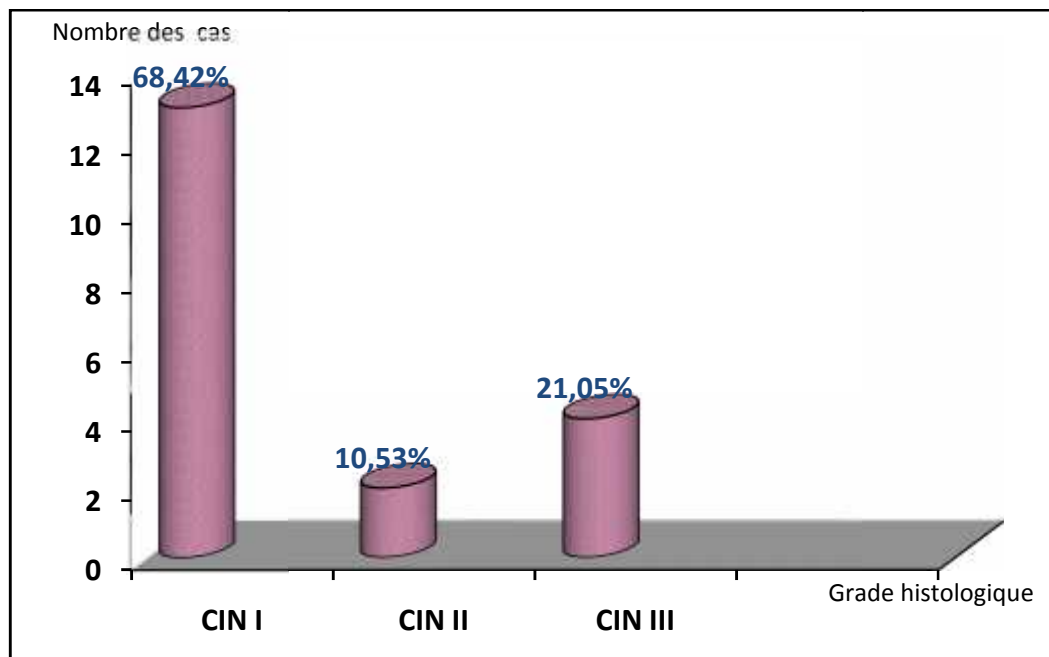


Fig. 37 : Répartition des cas dysplasies cervicales selon le grade histologique

II. 6. Répartition des dysplasies cervicales selon le grade histologique et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV HR

Parmi les 19 cas de dysplasies cervicales, 2 cas (10,53 %) de CIN I et un seul cas (5,26 %) de CIN III ont été HPV HR négatifs, 6 cas (31,57 %) de CIN I et 2 cas de CIN III (10,53 %) se sont révélés HPV HR faiblement positifs, 3 cas (15,79 %) de CIN I ont été HPV HR moyennement positifs et 2 cas (10,53 %) de CIN I ont été fortement positifs (figure 38) (voir Annexe 15, Tableau 9),

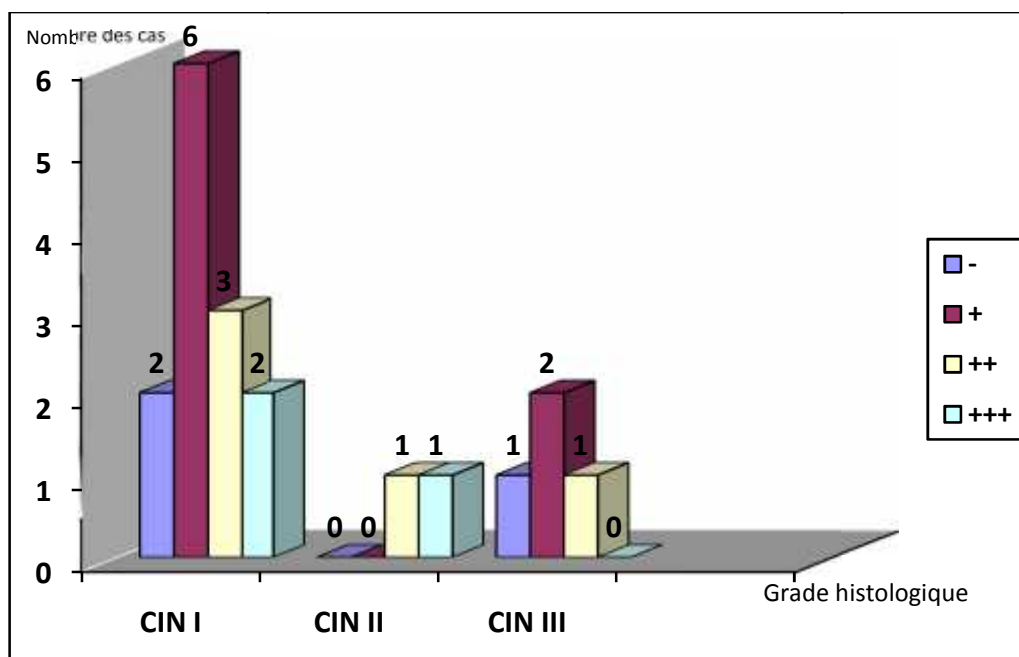


Fig. 38 : Répartition des dysplasies cervicales selon le grade et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV HR

III. Résultats du test HC2 et de la PCR

Nos résultats portent sur 115 prélèvements gynécologiques provenant des femmes résidant la région d'Alger. 92 patientes atteintes de lésions cervicales ont fait l'objet d'un prélèvement par grattage. Parallèlement, les échantillons prélevés chez 23 femmes à col normal ont servi de témoins.

Dans cette seconde partie du travail la recherche des HPVHR est réalisée par deux techniques de biologie moléculaire : l'hybride capture 2 et PCR.

III. 1. Répartition des cas en fonction des tranches d'âge

Parmi les 115 cas étudiés, plus de deux tiers des patientes (67, 82 %) sont âgées entre 31 et 50 ans (figure 39) (Annexe 15, Tableau 10).

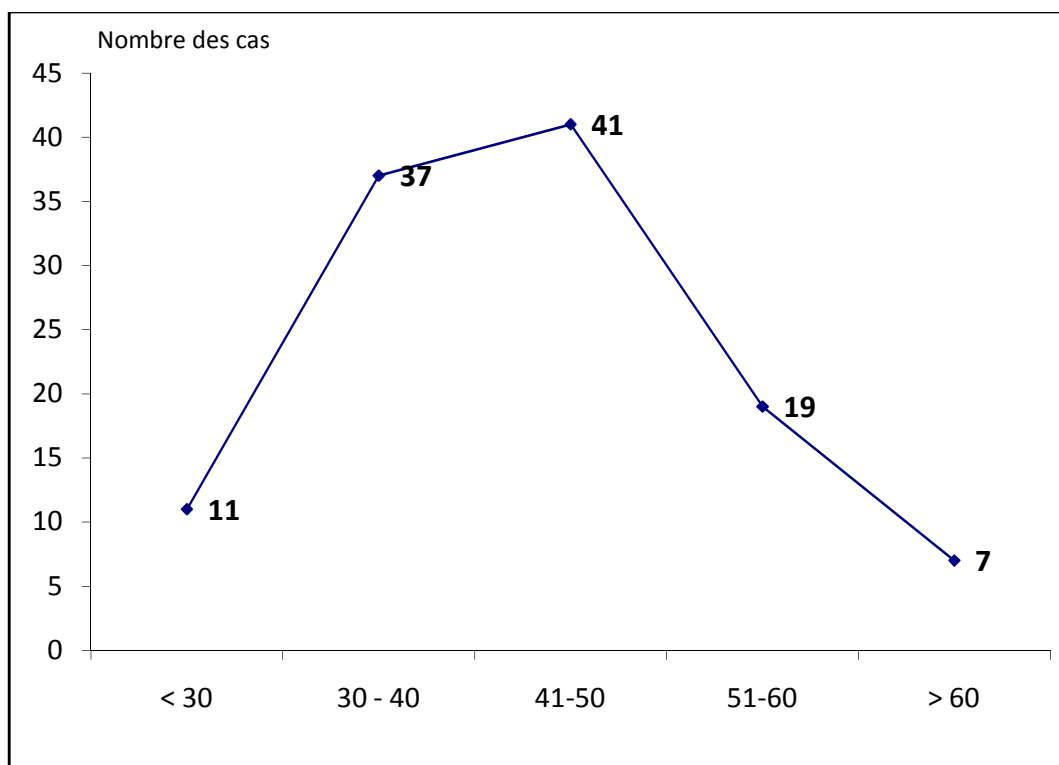


Fig. 39 : Répartition des cas en fonction des tranches d'âge

III. 2. Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie

Nos résultats montrent que sur 115 femmes, 55 cas (47,83 %) présentent une lésion cervicale de bas grade CIN I et un nombre non négligeable 16 cas (13,91 %) montrent une lésion cervicale de haut grade (CIN II et CIN III).

Ainsi parmi ces patientes, 12 cas (10,43 %) présentaient un col inflammatoire, 09 cas (07,83 %) présentent un condylome et 23 cas (20 %) avaient un col sain (figure 40) (annexe 15, Tableau 11).

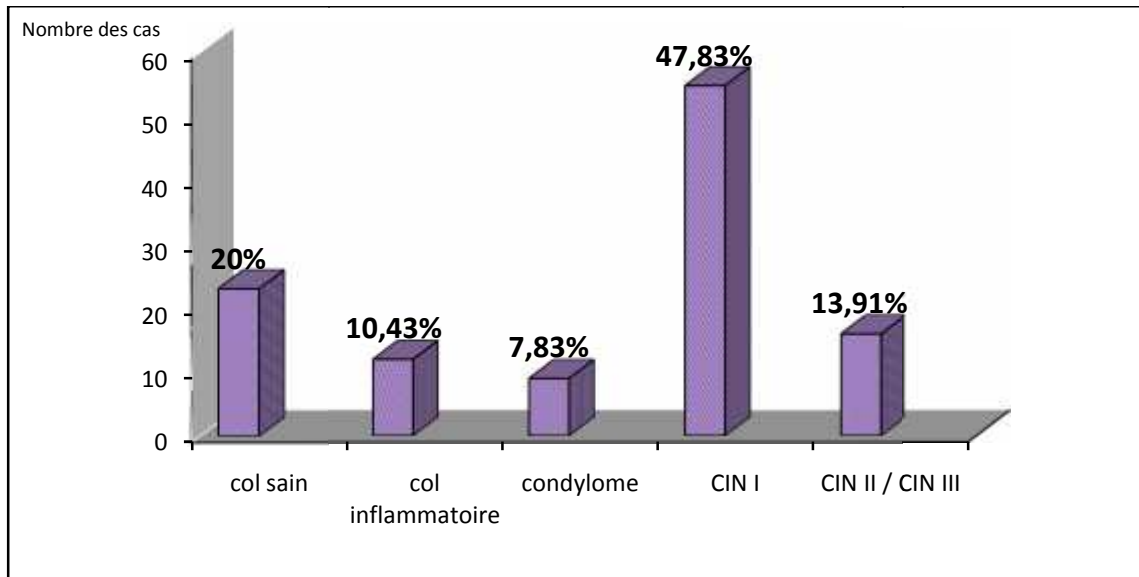


Fig. 40 : Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie

III. 3. Répartition des cas selon l'âge et de la cyto-histopathologie

L'analyse des données cyto-histopathologiques chez les 115 patientes étudiées montre que, 9 cas (7,82 %) ayant un col sain, 29 cas (25,22 %) de CIN I et 6 cas (5,22 %) de CIN II/CIN III sont âgés entre 30 et 40 ans. 7 cas (6,09 %) de col sain, 5 cas (4,34 %) de col inflammatoire, 12 cas (10,43 %) présentent de CIN I et 7 cas (6,09 %) de CIN II/CIN III sont âgés entre 41 et 50 ans (figure 41) (Annexe 15, Tableau 12).

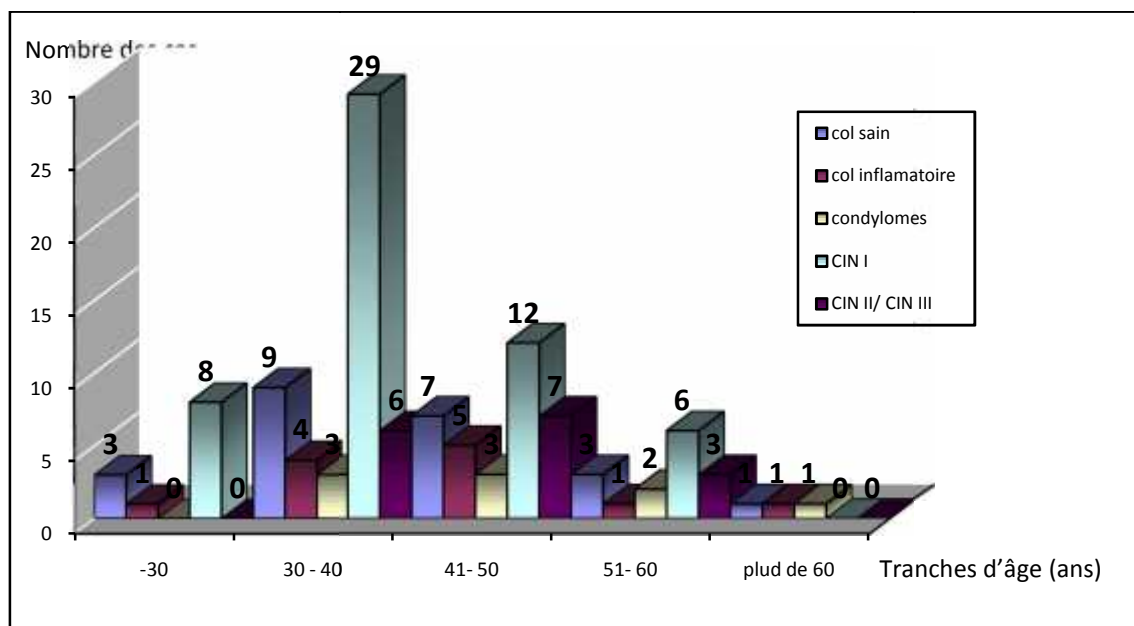


Fig. 41 : Répartition des cas en fonction de l'âge et de la cyto-histopathologie

III. 4. Recherche des HPV à haut risque (HPV HR) par les deux techniques de biologie moléculaire

La recherche des HPV HR a été effectuée dans cette partie par deux techniques de Biologie moléculaire : Hybride capture 2 et la PCR.

III. 4. 1. Recherche d'HPV HR

Sur 115 cas étudiés 49 cas (42,61 %) se sont révélés positifs et tous les cas décelés positifs par la technique hybride capture 2, ont été confirmés par la technique PCR (figure. 42) (voir Annexe 15, Tableau 13).

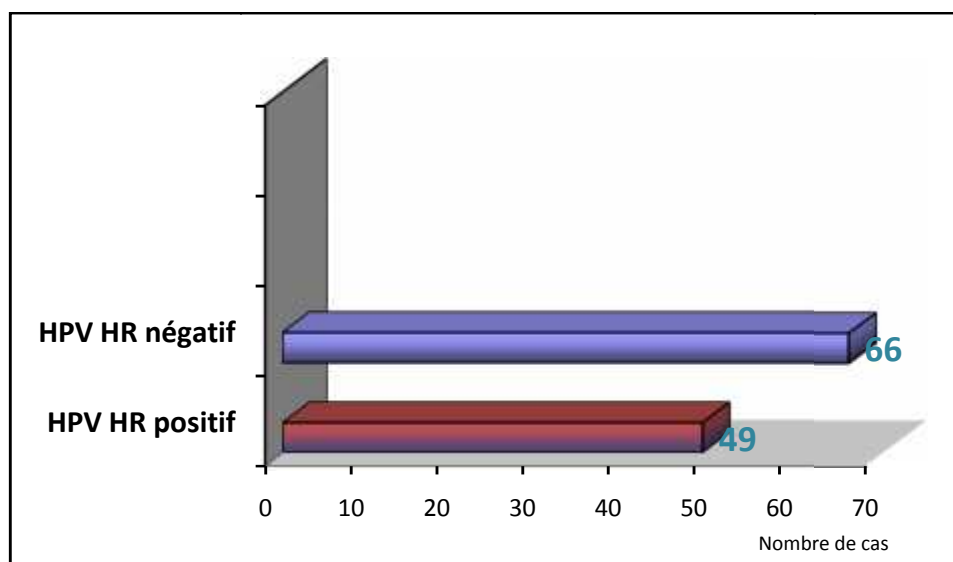


Fig. 42 : Nombre de cas HPV HR positifs détectés par HCII et par PCR

III. 4. 2. Recherche d'HPV HR en fonction des résultats cyto-histopathologiques

La recherche des HPV HR par les deux technique HCII et PCR sur les 115 cas de notre série montre par rapport aux données cyto-histopathologiques, que 36 cas (31,31 %) de lésions de bas grade (CIN I) et 12 cas (10,43 %) de lésions de haut grade (CIN II et CIN III) ont été HPV HR positif (Figure 43) (Annexe 15, Tableau 14).

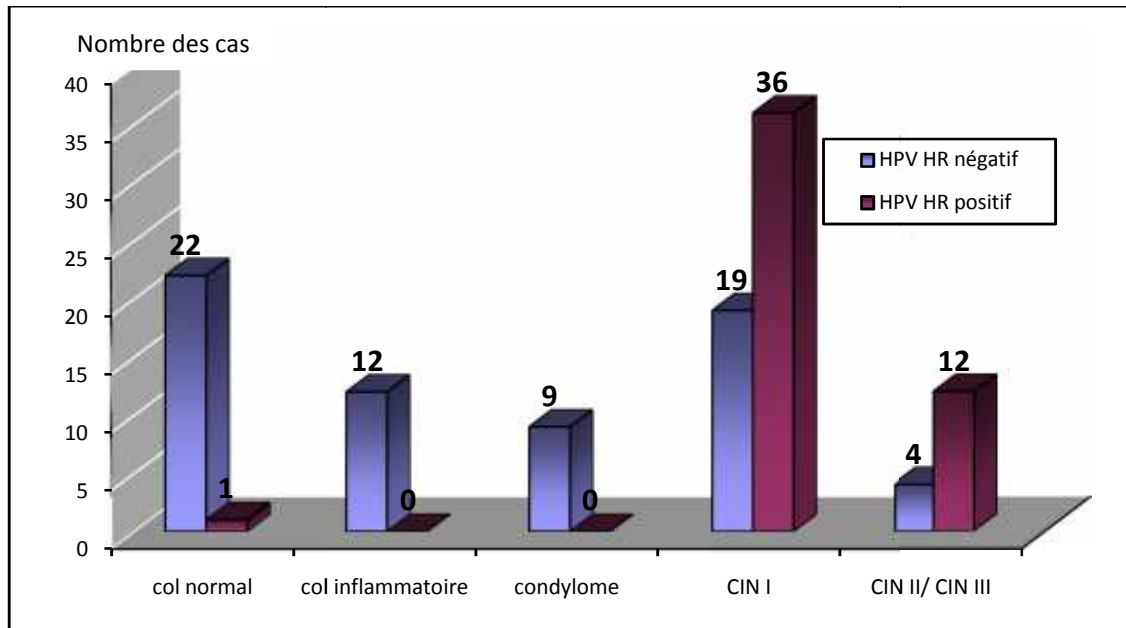


Fig. 43 : Recherche d'HPV HR en fonction des résultats cyto-histopathologiques

III. 4. 3. Recherche d'HPV HR dans le cas de col sain

La recherche d'AHPV HR chez les femmes qui présentent un col sain, indique qu'un seul cas seulement (4,35 %) s'est révélé HPVHR positif, le reste (95,65 %) étaient HPV HR négatifs (Tableau 15).

Tableau 15 : Recherche d'HPV HR dans le cas de col sain

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
Col normal	1	22	23
Pourcentage (%)	4,35	95,65	100

III. 4. 4. Recherche d'HPV HR dans le cas de col inflammatoire

La recherche d'HPVHR été négative dans tous les cas du col inflammatoire (Tableau 16).

Tableau 16 : Recherche d'HPV HR dans le cas de col inflammatoire

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
Col inflammatoire	0	12	12
Pourcentage (%)	0	100	100

II. 4. 5. Recherche d'HPV HR dans le cas de condylome

La recherche d'HPVHR été négative dans tous les cas de condylome (Tableau 17).

Tableau 17 : Recherche d'HPV HR dans le cas de condylome

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
Condylome	0	09	09
Pourcentage (%)	0	100	100

III. 4. 6. Recherche d'HPV HR dans le cas de lésion de bas grade

La recherche d'HPV à haut risque été positive dans plus que la moitié des cas de dysplasie légère, 36 cas HPV HR positif parmi 55 cas de CIN I (65,46%), le reste 19 cas (34,54%) ont été HPV HR négatif (Tableau 18).

Tableau 18 : Recherche d'HPV HR dans le cas de lésion de bas grade

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
CIN I	36	19	55
Pourcentage (%)	65,46	34,54	100

III. 4. 7. Recherche d'HPV HR dans le cas de lésion de haut grade

Dans le cas de dysplasies modérées et sévères, 12 cas ont été HPV HR positifs se qui représente 75 % des cas de CIN II et CIN III (Tableau 19).

Tableau 19 : Recherche d'HPV HR dans le cas de lésion de haut grade

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
CINII/CINIII	12	04	16
Pourcentage	75 %	25 %	100 %

Discussion Générale

Il est clairement admis aujourd'hui que les papillomavirus (HPV) dits à risque sont les agents responsables des lésions précancéreuses et du cancer du col utérin. Comparé aux autres facteurs de risque de cancer en particulier le tabac, voire même le virus de l'hépatite B, les papillomavirus sont reconnus comme le facteur de risque le plus puissant au développement du cancer. D'après les études de Bosch et d'autres publiées en 2002, le risque relatif du cancer du poumon lié au tabac est évalué à 10, celui du cancer du foie lié à l'hépatite B est évalué à 50, celui du cancer du col lié aux HPV est évalué de 300 à 500. Cependant l'infection à HPV est relativement fréquente dans la population générale, Winer et d'autres chercheurs en 2005 estiment qu'environ sept femmes sur dix sont exposées au moins une fois durant leur vie aux HPV et que sans intervention, une femme sur cinq exposées aux HPV peut développer un cancer du col. L'exposition à ce virus se fait par contact sexuel souvent lors des premiers rapports. Par conséquent les femmes jeunes sont les plus exposées aux risques d'infections à l'HPV.

Ainsi, les études menées auprès d'étudiantes universitaires où de jeunes femmes américaines ont mis en évidence des prévalences d'HPV particulièrement élevées, de 26 à 39 % (Herrero *et al.*, 2000 ; Frenczy, 1995).

Cette infection au niveau du col se manifeste par l'apparition des lésions condylomateuses et dysplasiques. La plus part des lésions régressent spontanément en plusieurs mois ou années, mais certaines peuvent persister et le virus peut rester latent dans la cellule (Kotloff *et al.*, 1998 ; Peyton *et al.*, 2001) ou évoluer vers une dysplasie de haut grade voire un carcinome. En l'absence d'HPV le temps médian de régression des lésions cervicales est de 5 à 6 mois, par contre en sa présence, le temps de régression est de 17 à 60 mois (Mcowan *et al.*, 1999).

Partie I

Épidémiologie du cancer du col utérin

La première partie du travail est une étude rétrospective descriptive qui s'est déroulée sur une période de dix sept ans. L'étude de 210 dossiers médicaux enregistrés entre la 1^{er} Janvier 1998 et 31 Décembre 2015, nous a permis de déterminer plusieurs paramètres qui semblent être les facteurs de risque secondaires associés à la survenue du cancer du col de l'utérus mis à part l'infection virale.

Le plus grand nombre de cas a été enregistré en 1998 (22 cas), suivie par l'année 2010 avec 20 cas, puis l'année 2003 et 2011 avec 19 cas de cancer cervical. La fréquence de ce cancer a diminué sensiblement dans les quatre dernières années avec 4 cas enregistrés en 2015.

Les taux d'incidence les plus élevés ont été enregistrés en Amérique latine, aux Caraïbes, en Asie et en Afrique. L'Inde enregistre 90.000 nouveau cas par année soit 16 % du total mondial (Robyr, 2002). En Afrique, et d'après l'Organisation Mondiale de la santé (OMS, 2007), on compte 67 pour 100 000 nouveau cas par année à Harare (Zimbabwe) et 40,80 pour 100 000 nouveau cas par année à Kampala (Ouganda).

Dans notre série, le carcinome épidermoïde est le type histologique le plus fréquent avec 96,2 % des cas. Ce qui corrobore parfaitement avec les données de littérature, les carcinomes épidermoïdes représentent l'immense majorité des cas (95 %) tandis que les adénocarcinomes sont des tumeurs moins fréquentes (5% à 10% des cas) (Bernard, 2002).

Certains auteurs notent ces dernières années une augmentation relative des adénocarcinomes par rapport aux carcinomes épidermoïdes parmi les cancers cervicaux de la femme jeune, avec une fréquence comprise entre 10 et 20 % (Thomé Saint *et al.*, 1993 ; Marie *et al.*, 1993).

Concernant notre étude, 82,42 % des malades consultaient à un stade dépassant le stade I (classification FIGO, 2009), et de nombreuses publications soulignent la découverte de cette pathologie à des stades très avancés notamment en Afrique Mouele Sone *et al.*, 1994 ; Yomi *et al.*, 1996 ; Sangare *et al.*, 1986 ; Gombe *et al.*, 1984).

Les lésions pré-invasives sont asymptomatiques et inapparentes à l'examen au speculum, elles sont le plus souvent de découverte fortuite à l'occasion d'un frottis cervico-vaginal.

Le pourcentage élevé des cancers invasifs constaté dans notre série indique que le cancer du col est souvent diagnostiqué à un stade avancé, c'est-à-dire lorsqu'il devient symptomatique à cause du refus des femmes de se soumettre au test FCV pour des raisons socioéconomiques et même psychologiques, ce qui contribue largement à l'augmentation de sa fréquence dans notre région.

Le facteur "âge" chez la femme semble être déterminant dans l'apparition du cancer du col utérin. La moyenne d'âge de survenue de cette maladie est aux environs légèrement de $50,4 \pm 3,96$ ans avec des extrémités allant de 25 à 85 ans.

Lankoande et d'autres chercheurs (1998) ont trouvé un âge moyen de 48 ans qui est plus bas que celui de notre série, alors que celui rapporté par Yomi (1996) est aux alentours de 59 ans.

Un nombre assez puissant d'études ont montré que ce cancer en Afrique apparaît à un âge relativement jeune par rapport aux pays occidentaux (Quenum, 1971 ; Yomi *et al.*, 1996).

La fréquence du cancer cervical varie selon l'âge des femmes, en effet, dans notre population la tranche d'âge la plus touchée est celle de]50, 55] avec 17,14% des cas suivis par la tranche]45, 50] ans avec 15,71% des cas et la tranche]40, 45] ans avec 14,76% des cas.

L'âge des patientes modifie de façon évidente la durée du portage, les femmes âgées de plus de 50 ans éprouvent plus de difficultés à éliminer les infections à HPV. Cette persistance plus fréquente chez les patientes âgées paraît être la conséquence de l'immunosénescence due à l'âge, la diminution des capacités immunitaires favorisant la persistance de l'infection.

Alors que l'acquisition de nouvelles infections par HPV est plus fréquente chez les femmes jeunes, celles-ci parviennent donc plus rapidement et plus souvent à les éliminer (Rappillard, 2010).

La majorité des patientes de notre étude étaient des femmes mariées (89 % des cas), ce résultat est en parfait accord avec ceux de Cabanne et Bonenfant (1980) et même Winer *et al.* (2005) qui ont démontré que le cancer cervical est extrêmement rare chez les vierges, contrairement au cancer de l'utérus et au cancer du sein. De même, dans d'autres études, l'association entre l'activité sexuelle et le développement des CIN a été rapportée comme directement corrélée au risque de l'infection cervicale à HPV chez les femmes jeunes (Rozendaal *et al.*, 2000 ; Woodman *et al.*, 2001).

Les deux facteurs de risque traditionnels du cancer du col sont l'âge précoce des premiers rapports et le nombre de partenaires sexuels ainsi que la parité (Koutsky, 1997) (Schiffman, 2003). Ces résultats ont été confirmés dans notre première partie du travail. En effet, nos résultats ont montré les facteurs de risque les plus responsables ou incriminés ; la précocité de l'activité sexuelle dans plus de 91 % des cas, la multiparité et/ou l'avortement dans plus la moitié des cas puisque 60 % des femmes étaient de grandes multipares.

Ceci suggère la vulnérabilité de la zone de transformation du col à un âge précoce en favorisant l'infection et le développement des lésions précancéreuses.

De même, la blessure causée au col de l'utérus, lorsque le bébé quitte l'utérus en passant par le col au moment de l'accouchement, serait une explication possible.

Bouffard trouvait qu'à partir de 35 ans, les multipares deviennent de plus en plus exposées au risque de cancer du col ; ainsi le cancer du col augmente avec la parité

et paraît six fois plus élevé chez la multipare que chez la paucipare (Diallo *et al.*, 1992).

Les données groupées de huit études cas témoins sur le cancer invasif du col utérin et deux études sur le cancer *in situ* (CIS) provenant de quatre continents semblent montrer que, par rapport à des femmes qui n'ont jamais eu d'enfant, celles qui en ont eu trois ou quatre enfants ont 2,6 fois plus de risque de contracter un cancer du col utérin ; celles qui en ont eu sept ou plus avaient 3,8 fois plus de risque (Muñoz *et al.*, 2002).

Par ailleurs, certains auteurs pensent que l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux pourrait être associée à un risque légèrement accru du cancer du col et le risque serait de 100% pour une utilisation de 10 ans et plus (Smith *et al.*, 2003).

Notre étude indique que la prise de contraception hormonale était positive dans plus que la moitié des cas, soit 69%.

Les recherches semblent montrer qu'il existe une relation potentielle à long terme entre l'utilisation prolongée de contraceptifs oraux et le développement du cancer du col utérin. Une méta-analyse de 10 études cas-témoins de patientes atteintes d'un cancer du col invasif ou d'un CIS laisse penser que l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux pourrait augmenter le risque de cancer du col jusqu'à quatre fois chez les femmes ayant une infection à HPV (Moreno *et al.*, 2002).

Une synthèse de 26 études réunissant au total plus de 12500 femmes atteintes d'un cancer du col de l'utérus montre une augmentation du risque de cancer invasif chez les femmes prenant ou ayant pris des contraceptifs oraux. Ce risque augmente avec la durée d'utilisation ; l'augmentation du risque est de 10% pour une utilisation de moins de 5 ans, de 60% pour une utilisation de 5 à 9 ans, et de 100% (doublement du risque) pour une utilisation de plus de 10 ans (Schlegel, 1990).

Jusqu'à présent, aucune étude n'a établi une relation entre le cancer cervical et l'apparition d'autres pathologies tels que l'hyper tension artérielle (HTA), diabète, maladies cardiaques... .

Cependant, notre étude semble montrer que l'apparition de certaines pathologies soit associées à cette infection virale puisque 13,81% ont fait une HTA, 5,24% du diabète et 2,38% des cas ont présenté des antécédents d'infections sexuellement transmises.

Les femmes qui sont à la fois infectées par le HPV et un autre agent sexuellement transmissible, comme le *Chlamydia trachomatis* ou le virus de l'herpès simplex-2 (VHS-2) sont plus susceptibles de développer un cancer du col utérin que les femmes qui ne sont pas co-infectées. Une analyse groupée de sept études cas-témoins examinant l'effet de l'infection par le VHS-2 dans l'étiologie du cancer invasif du col utérin a montré que parmi les femmes positives au HPV, le VHS-2 était associé à une multiplication par trois du risque de développer un cancer du col utérin après correction pour d'éventuels facteurs de confusion (Smith *et al.*, 2002). La notion antérieure d'infection sexuellement transmises (IST) a été retrouvée chez 70,2% des patientes (N'guessan *et al.*, 2009).

D'autres séries africaines et occidentales (Body *et al.*, 1998 ; Munoz *et al.*, 2003 ; Smith *et al.*, 2003) constataient également une fréquence élevée d'IST chez les femmes présentant une néoplasie cervicale. L'opinion était que les états inflammatoires cervicaux jouaient un rôle prépondérant dans l'apparition du cancer du col et que l'infection cervicale chronique mal traitée ferait le lit du cancer.

Plusieurs auteurs (Dos Santos et Beral, 1997) admettent que le cancer du col utérin toucherait beaucoup plus les classes sociales économiquement faibles. D'après Jean De Brux indique que 120 femmes sur 100 000 en sont atteintes par le cancer cervical en France, ce nombre est presque doublé dans les classes socioéconomiquement faibles.

L'explication résiderait dans le fait que c'est dans ces classes que sont le plus souvent réunis les facteurs qui définissent le groupe à hauts risques du cancer du col (hygiène déficiente, infections, multiparité, ...). Les femmes d'un niveau socioéconomique faible ont souvent des revenus limités, un accès restreint aux services de santé, une mauvaise alimentation et une connaissance limitée des problèmes de santé et des comportements préventifs. Nos résultats corroborent

avec ces données de la littérature en effet, notre étude indique que presque la moitié des patientes (49,52%) vit dans des conditions défavorables avec un niveau socioéconomique bas.

D'autres facteurs de risque possibles ont été rapportés comme les carences nutritionnelles (Folates, vitamine A et vitamine C) qui affaiblissent le système immunitaire et rend impossible d'éliminer le HPV par l'organisme.

Actuellement, aucune étude sur la nutrition n'est réellement convaincante mais la consommation élevée de légumes, d'acide folique, de vitamine A et d'antioxydants serait associée à un effet protecteur possible contre les néoplasies cervicales (Garcia-Closas *et al.*, 2005).

Tous ces facteurs peuvent les rendre plus vulnérables aux maladies, y compris celles que l'on peut prévenir, comme le cancer du col utérin.

Partie II

***Détection des HPV HR par immunohistochimie et
biologie moléculaire (HC II et PCR)***

Concernant la *deuxième étude*, nous avons effectué l'immuno-marquage de 52 biopsies provenant des patientes âgées entre 38 et 80 ans avec un âge moyen de $56 \pm 3,18$ ans. La majorité de ces patientes (88,46 %) sont âgées entre 41 et 70 ans avec un pic de 36,54 % entre 51 et 60 ans. Sur 33 cas de carcinomes épidermoïdes et 19 cas de dysplasies cervicales, 11 cas (21,15 %) de carcinomes épidermoïdes et 7 cas de CIN I (13,46 %) sont âgés entre 51 et 60 ans. En accord avec les données de la littérature (Remontet *et al.*, 2003), ces constatations indiquent que l'âge le plus propice à l'apparition des lésions cancéreuses après une dizaine ou vingtaine d'année de persistance de l'infection virale, concerne apparemment les tranches d'âge ménopausique et post-ménopausique, L'augmentation de la prévalence des lésions cervicales à la ménopause, pourrait s'expliquer par les modifications hormonales et leur conséquence immunitaire, peut être aussi expliquée par l'atrophie urogénitale et le risque de microtraumatismes accrus favorisant la pénétration des HPV et leur carcinogénèse.

Dans notre population, sur 33 cas de carcinomes épidermoïdes, la recherche des HPV HR par immunohistochimie était positive dans 30 cas (90,91 %). Ce résultat concorde avec les données de l'étude de Waboomers *et al.* publiées en 1999, qui montrent que les HPV HR sont détectés dans 99,7 % des carcinomes épidermoïdes du col utérin.

A l'échelle mondiale et à l'exception de trois pays ; Canada, l'Allemagne et la Pologne, le taux de positivité aux papillomavirus dépasse les 90 % (Tableau 20) (Franco *et al.*, 2000).

Tableau 20 : Association des HPV aux carcinomes épidermoïdes ; comparaison internationale (Franco *et al.*, 2000)

Pays	Pourcentage des cas HPV positifs (%)
Algérie, Maroc	94,6
Argentine, Bolivi, Brésil, Chili	91,4
Bénin, Guinée, Mali, Tanzanie, Ouganda	95,5
Afrique du sud	95
Canada, Allemagne, Pologne	83,6
Espagne, USA,	97,7
Ind, Indonésie, Philipine, Thaïlande	96,5
Paraguay, Pérou	96,9

Parmi les 19 cas de dysplasies cervicales, 16 cas (84,21 %) se sont révélés HPV HR positifs et 3 cas (15,79 %) négatifs. Ce résultat corrobore parfaitement avec les données d'une méta-analyse récente (Smith *et al.* 2007) qui montrent que l'HPV HR a été détecté dans 84 % des lésions dysplasiques. Ces chiffres se rapprochent aussi avec les résultats rapportés par l'étude de Seigneurin et Morande (1997) qui montrent que l'infection à HPV est largement incriminée dans les néoplasies intra-épithéliales, de même la recherche d'ADN viral est positive dans plus de 90% des cas.

Le marquage des HPVHR par immunohistochimie sur les biopsies, était cytoplasmique formant un halot marron autour des noyaux des cellules carcinomateuses (voir planche I). L'analyse microscopique des coupes histologiques des biopsies de certaines patientes montre des lésions de haut grade

avec un immunomarquage fortement positif des cellules basales. Cela pourrait être expliqué par la grande affinité que présentent les HPV aux cellules basales ce qui constitue son premier site d'infection qui pourrait être atteint par le biais de la zone de jonction. Récemment, il a été rapporté dans l'étude de Culp *et al.* publiée en 2006 que, la laminine 5, une protéine de la lame basale et ligand des intégrines, serait capable de piéger des virions HPV 11 ou des VLP HPV 11 et faciliterait leur interaction avec des cellules épithéliales.

L'immunomarquage montre aussi que, sur 33 cas de carcinomes épidermoïdes 22 cas étaient faiblement positifs et 4 cas fortement positifs.

Parmi les 16 cas positifs de dysplasies cervicales, 8 cas (42,10 %) ont été fortement positifs, 5 cas (26,32 %) moyennement positifs et 3 cas (15,79 %) fortement positifs.

Pour les dysplasies cervicales, 2 cas de CIN I et un seul cas de CIN III ont été HPV HR négatifs, 6 cas de CIN I et 2 cas de CIN III ont été HPV HR faiblement positifs, 3 cas de CIN I ont été HPV HR moyennement positifs et 2 cas de CIN I ont été fortement positifs.

A travers ces résultats il semblerait que la densité de l'immunomarquage peut nous informer sur la densité de la charge virale mais cette dernière ne présente aucune corrélation avec le grade histologique de la lésion ni avec l'âge des patientes. Par contre, de nombreuses études montrent une discordance à ce niveau.

Il est utile de calculer la charge virale dans un milieu liquide, dans le cadre de la surveillance par des techniques de biologie moléculaire. En effet, dans le cadre du dépistage et de surveillance, l'HC2 et PCR en milieu liquide sont très utiles et sensibles pour diagnostiquer des lésions cervicales. Par contre, l'immunohistochimie est une technique très efficace pour confirmer le diagnostic des lésions cancéreuses et étudier le comportement des infections et des cellules cancéreuses dans le cadre de la recherche scientifique.

L'HC2 et la PCR montrent une grande sensibilité pour la détection de la charge virale. Ces deux techniques, peuvent démontrer qu'après l'âge de 30 ans et

comparativement aux cols normaux, la présence de charge virale élevée est significativement corrélée aux lésions précancéreuses (Pretet *et al.*, 2004).

Une charge virale élevée est un indicateur de CIN sous-jacente. Cuzick *et al.* (2002) ont montré qu'une charge HPV 16 élevée dans des frottis de dysplasies légères a une valeur prédictive de 100 % à détecter une lésion de haut grade sous-jacente.

Un travail de Sun *et al.* (2002) montre que la sévérité et la taille lésionnelle sont fortement corrélées à la charge virale.

D'après Monsonogo (2007) il existe quatre facteurs de risque importants conditionnant l'apparition d'une dysplasie cervicale après la persistance de l'infection à HPV :

- les types viraux (HPV 16-18) ;
- le nombre de copies d'ADN viral (charge virale) ;
- la réponse immunologique de l'hôte face aux protéines virales impliquées dans l'expression des lésions ;
- et en fin les facteurs d'environnement que sont les hormones et le tabac essentiellement.

Concernant notre deuxième partie d'étude, nos analyses portent sur 115 prélèvements gynécologiques. La recherche des HPVHR a été réalisée par deux techniques de biologie moléculaire : l'hybride capture 2 et la PCR.

Parmi les 115 cas étudiés, 44,35 % des patientes sont âgées entre 30 et 40 ans, ce qui représente le premier pic d'âge. Le deuxième pic représente les patientes âgées entre 41 et 50 ans avec un pourcentage de 29,57 % et un âge moyen de 35 ± 3 ans.

Selon les données cyto-histopathologiques, de ces femmes, 61,74 % présentaient des lésions intra-épithéliales dont 47,83 % une lésion cervicale de bas grade CIN I et 13,91 % une lésion cervicale de haut grade (CIN II ou CIN III). Douze cas (10,43 %) présentaient un col inflammatoire, 09 cas (07,83 %) présentent un condylome et 23 cas (20 %) un col sain.

En étudiant la corrélation entre les données cyto-histopathologiques et l'âge de nos patientes, 25,22 % de CIN I et 5,22 % de CIN II/CIN III concernait la tranche d'âge entre 30 et 40 ans. 10,43 % de CIN I et 6,09 % de CIN II/CIN III la tranche 41 et 50 ans.

Pour la tranche d'âge moins de 30 ans, 8 cas présentaient une lésion de bas grade (CIN I) ce qui représente un taux de 66,67 % et 6,96 % de la population générale, n'a pas montré de lésions de haut grade.

Il faut noter que le taux des lésions de bas grade (25,22 %) est très élevé par rapport aux lésions de haut grade (5,22 %) dans la tranche d'âge 30 et 40 ans. L'âge moyen des femmes avec des lésions de bas grade est estimé à 34 ans et celui de haut grade était de 39 ans. Par ailleurs, selon Herrero (2000) l'âge moyen des femmes avec des lésions intra-épithéliales de bas grade est de 29 ans.

Selon le même auteur (Herrero, 2000), la prévalence maximale de CINII et CIN III chez les femmes de moins de 25 ans est de 5,2 %, l'âge moyen des femmes avec des lésions de haut grade est de 34 ans.

Cette différence d'âge est expliquée par la précocité de l'activité sexuelle en Europe puisque 15 à 40 % des femmes de 15 ans sont sexuellement actives.

L'association entre l'activité sexuelle et le développement des CIN a été rapportée comme directement corrélée au risque de l'infection cervicale à HPV chez les femmes jeunes (Woodman *et al.*, 2002 ; Rozendaal *et al.*, 2000).

Selon Monsonego (2003), la prévalence de l'infection avant 30 ans est estimée à 30 % en moyenne. Elle diminue progressivement avec l'âge pour atteindre une moyenne de 10 % entre 30 et 50 ans et 5 % au-delà de 50 ans. Cette diminution de la prévalence de l'infection avec l'âge a été également remarquée dans notre étude, par la régression du nombre des CIN après la cinquantaine.

La détection de l'ADN des HPV après 30 ans reflète souvent la persistance de l'infection qui est souvent corrélée à une forme clinique. De la même façon, l'infection à HPV 16 ou 18 et une charge virale élevée sont significativement corrélées à la présence de lésions plutôt qu'à une forme latente (von Knebel et Syrjanen, 2006 ; Peitsaro *et al.*, 2002).

Par ailleurs, même dans les pays où le dépistage du cancer du col a fait la preuve de son efficacité par la diminution de son incidence, les récentes données rapportées à l'âge ont montré en particulier en Angleterre et aux Etats-Unis, une augmentation des cancers du col chez les femmes jeunes dans les tranches 25-29 ans et 30-34 ans (Cuschieri *et al.*, 2004).

Il a été rapporté que la prévalence des lésions cervicales de bas grade varie énormément, elle est estimée de 2,42 % en Afrique du Sud et 24,7 % en Colombie Britannique. La plupart des études considère que 10 à 15 % des CIN I non traités vont se transformer en suite en CIN II et CIN III, en moins 60 % des CIN I vont régresser spontanément et environ 30 % vont persister (Ostor, 1993 ; Nasiell *et al.*, 1986).

D'après l'étude de Holowaty *et al.* (1999) le risque de progression d'un CIN I vers une lésion plus grave a été évalué à 1 % par an, alors que le risque de progression d'un CIN II vers une lésion plus marquée étaient de 16 % à 2 ans et de 25 % à 5 ans.

Dans notre étude, 09 cas (7,83 %) présentaient un condylome avec une légère augmentation de 2,61 % entre 30 et 50 ans. Selon les études épidémiologiques, les condylomes sont actuellement l'une des MST les plus fréquentes en Europe, aux Etats-Unis, et en Australie. En 1997 aux Etats-Unis, 1 % des adultes sexuellement actifs était concernés (Koutsky, 1997).

Joffe (1992) a identifié une prévalence des condylomes de 5,2 % dans une population d'étudiantes américaines de 19 à 22 ans. La prévalence des verrues génitales est maximale chez les jeunes autour de 20 ans, elle diminue avec l'âge (Perty, 2002). Le risque à vie d'avoir des condylomes dans la population générale est d'environ 1 % (Monsonogo, 2007).

Dans cette dernière partie du travail, notre objectif consiste à faire une corrélation entre la détection de l'ADN viral et les données cyto-histologiques et vérifier si la détection moléculaire de ce virus pouvait contribuer à améliorer le diagnostic des lésions précancéreuses du col utérin.

Dans notre étude nous avons utilisé des tests HPV ADN les plus employés qui détectent un cocktail de treize HPV HR (Hybrid Capture 2 de Digene et Amplicor HPV de Roch), un résultat positif signifiant la présence de un à treize de ces HPV à haut risque.

Le test HC 2 HPV HR est le seul agréé par la FDA (Food and Drug administration) en triage des cytologies ASCUS depuis 2000 et en dépistage primaire combiné (test HC2 HPV HR associé à la cytologie) pour les femmes de plus de 30 ans depuis 2003.

Sur 115 cas étudiés 49 cas (42,61 %) se sont révélés positifs et tous les échantillons retrouvés positifs par la technique hybride capture 2, ont été confirmés par PCR. Ce qui montre que le test PCR est aussi bien sensible que le test HC2.

La recherche d'HPV HR en fonction des résultats cyto-histopathologiques montre que, l'infection à HPV est largement incriminée dans les néoplasies intra-épithéliales avec 36 cas (31,31 %) de lésions de bas grade (CIN I) et 12 cas (10,43 %) de lésions de haut grade (CIN II et CIN III).

Aucun résultat positif n'a été retrouvé pour les cas du col inflammatoire, ni les condylomes puisqu'ils sont associés aux HPV à bas risque.

Concernant les résultats des cas normaux 1 sur 23 cas s'est révélé HPV HR positif. Ce cas est expliqué par le phénomène d'infections latentes asymptomatiques qui ne conduisent à aucune anomalie cytologique ou colposcopique, puisque l'ADN viral ne s'intègre pas à l'ADN cellulaire. Ces infections latentes constituent des réservoirs viraux à partir desquels les HPV peuvent reprendre leur cycle de réplication suite à un événement extérieur (Etat de stress qui provoque une immunosuppression par exemple), s'intégrer et provoquer des lésions du col utérin.

La majorité des femmes exposées aux HPV développent une immunité naturelle liminale pour en échapper. Cette clearance des HPV est observée en général dans un délai de 9 à 12 mois (Monsonogo, 2003 ; Giuliano *et al.*, 2002). Un nombre limité de femmes garderont les papillomavirus latents ou quiescents

durant des mois voire des années. Elles peuvent alors développer en cas de persistance de l'infection une lésion intraépithéliale, qui, non détectée, pourrait aboutir à un cancer des années plus tard si le dépistage n'est pas réalisé ou a échoué (Cuschieri *et al.*, 2005 ; Wallin *et al.*, 1999).

En effet, les femmes HPV HR positifs ont à risque de développer une lésion précancéreuse même en l'absence d'anomalies cytologiques.

Selon Perty (2002), l'absence de l'HPVHR diminue fortement la probabilité qu'une lésion cervicale progresse vers un cancer.

Dans le monde, deux tiers des cancers du col sont dus aux HPV 16 et 18. En Europe, près de 70 % des cancers du col sont associés aux HPV 16 et 18. En Asie du Sud-Est les HPV 18 sont présents dans près de 32 % des cas alors que, en Amérique du Nord et en Afrique les HPV 45 sont détectés en moyenne dans 13 % des cancers du col (Munoz *et al.*, 2003) (Munoz *et al.*, 2004).

Dans la population générale, cette infection est largement présente. Une étude épidémiologique pratiquée dans la Somme (France) a montré que parmi 3832 femmes âgées de 20 à 62 ans ayant bénéficié d'un examen de routine entre 2000 et 2001, la détection d'ADN viral d'un HPV oncogène était positive dans 14 % des prélèvements génitaux (Khan *et al.*, 2005). Le portage est maximal chez les adolescentes et les jeunes femmes âgées de moins de 25 ans.

En ce qui concerne la sensibilité et spécificité des techniques utilisées, nous constatons que la sensibilité du test HPV est plus élevée que la cytologie dans la détection des lésions dysplasiques de bas grade, alors que sa spécificité semble plus faible que la cytologie dans la détection des lésions dysplasiques de haut grade.

De nombreuses études (Clavel *et al.*, 2001 ; Ronco *et al.*, 2006) ont montré la très forte valeur prédictive négative, proche de 100 %, du test HC2 HPV HR. Une femme ayant un résultat HC2 HPV HR négatif a un risque quasi nul de développer un cancer du col de l'utérus dans les années suivantes.

L'amélioration de la sensibilité du dépistage par l'association du test ADN HPVHR à la cytologie permet par sa valeur prédictive négative de près de 100 % de proposer en toute sécurité l'augmentation de l'intervalle entre deux dépistages à au moins trois ans voire plus, aboutissant de ce fait à une diminution du coût.

Ce dépistage doit concerner les femmes de 30 ans et plus, puisque dans la plus part des cas, chez les moins de 30 ans, ces infections sont transitoires et s'accompagnent de la disparition des anomalies cytologiques, d'après Mosciki *et al.* (2006). Il est à noter que ce test n'est pas utilisé pour diagnostiquer une infection à HPV en tant que telle, mais bien parce que la présence du virus est un marqueur potentiel d'une lésion précancéreuse ou cancéreuse présente ou future du col utérin.

Dans le cadre du suivi des femmes traitées pour des lésions de haut grade, le test HPV correspond par sa négativité à un test de guérison.

Le test HPV HR a des avantages démontrés :

- éviter le retour rapide des patientes qui ont un test HPV HR négatif et cytologie normale pour un suivi de routine, donc une diminution importante du coût de suivi ;
- il permet de concentrer la surveillance sur des patientes HPV HR positif et/ou à cytologie anormale et c'est la population qui est réellement à risque d'invasion ;
- il augmente la sensibilité du dépistage des lésions précancéreuses et la spécificité de la colposcopie ;
- il améliore le dépistage des récurrences vraies en diagnostiquant le portage persistant en HPV.

Conclusion

et

Recommandations

CONCLUSION & RECOMMANDATIONS

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

Le Papillomavirus humain (HPV) est l'agent étiologique principal du cancer du col, mis à part l'infection virale, le cancer cervical est multifactoriel et les autres facteurs de risque qu'on a remarqué au cours de notre première étude sont : la précocité de l'activité sexuelle, les accouchements et les avortements multiples, l'utilisation de contraceptifs hormonaux, l'infection sexuellement transmissible, la ménopause et l'appartenance aux classes socioéconomiques défavorisées. L'âge moyen des patientes était de $50,4 \pm 3,96$ ans, la proportion des femmes ménopausées était de 56 %, et plus que la moitié (60%) sont de grandes multipares. Le carcinome épidermoïde représentait presque 96 % et 82,42 % sont des cancers invasifs.

En Algérie, ces chiffres horribles des cas du cancer du col utérin montrent l'absence du dépistage systématique et la consultation tardive qui pourrait être liée au frein que constituent certaines considérations sociales, psychologiques et même religieuses dans certains cas. Pour être efficace, la prévention de ce cancer doit être intégrée dans une politique globale de santé publique avec une forte composante éducative permettant de sensibiliser les femmes sur cette maladie et leur faisant connaître les avantages du dépistage et réduire leur peur et leur mauvaise compréhension du diagnostic et des traitements du cancer cervical. Il est important de connaître la population visée et son niveau d'éducation pour lui fournir l'information de façon compréhensible.

Le cancer du col est le seul cancer évitable puisque les lésions dysplasiques peuvent mettre jusqu'à 10 à 15 ans pour se développer et atteindre le stade d'invasion, donc on peut facilement le dépister à un stade précoce.

Dans le cadre du dépistage, dans notre région le dépistage du cancer du col se fait d'une manière occasionnelle (lors d'une consultation), pas de programme organisé, il se repose uniquement sur l'examen cytologique du frottis cervico-vaginal. Or il est prouvé que la sensibilité de ce dernier ne dépasse pas 60% (Fahey *et al.* 1995) et, plus récemment, un nombre inacceptable de cancers invasifs ont été observés chez des femmes régulièrement contrôlées par frottis (Monsonogo, 2002).

L'absence du papillomavirus sur frottis exclut presque toujours et en toute sécurité la présence d'une lésion précancéreuse (Walboomer, 2006), ce qui ne peut être affirmé par la réalisation du seul frottis conventionnel. Il est donc quasiment nécessaire d'intégrer les tests de biologie moléculaire (HCII et PCR), la sensibilité de ces tests est supérieure à 95 %, ce que le seul frotti du dépistage ne permet pas d'affirmer.

L'intensité du marquage par immunohistochimie qui peut nous informer sur la densité de la charge virale ne présente aucune corrélation avec le grade histologique de la lésion ni avec l'âge des patientes. Par contre, il est utile de calculer la charge virale dans un milieu liquide, dans le cadre de la surveillance par des techniques de biologie moléculaire.

L'HCII et la PCR montrent une grande sensibilité pour la charge virale. Ces deux techniques, peuvent démontrer qu'après l'âge de 30 ans et comparativement aux cols normaux, la présence de charge virale élevée est significativement corrélée aux lésions précancéreuses.

Le test HPV combiné au frottis éviterait 1000 cancers du col environ chaque année en France d'après les données de Monsonogo publié en 2006.

L'introduction d'un test hypersensible de dépistage comme le test HPV ne se conçoit qu'avec un espacement de l'intervalle du dépistage chez les femmes qui ne sont pas à risque. L'absence d'HPV confère une protection sûre et durable que le seul frottis instantané ne peut garantir.

Les études économiques d'impact de l'introduction de ce test à large échelle doivent se poursuivre mais ne doit pas être un frein à son utilisation ni à l'examen sérieux de son remboursement.

Pour augmenter la spécificité du dépistage, il faut faire recours au génotypage des HPV HR, en particulier dans la population de dépistage de frottis normal HPV HR positif. Le fait que plusieurs études (Castel *et al.*, 2005 ; khan *et al.*, 2005) ont montré que les femmes HPV 16 sont à risque plus élevé de développer une CIN 3 comparativement à d'autres types viraux. En effet, dans le cadre du dépistage et de surveillance, l'HCII et PCR en milieu liquide sont très utiles et sensibles pour diagnostiquer des lésions cervicales. Par contre, l'immunohistochimie est une technique très efficace pour confirmer le diagnostic des lésions cancéreuses et étudier le comportement des infections et des cellules cancéreuses dans le cadre de la recherche scientifique.

En ce qui concerne le vaccin, le ministère de la santé et de la réforme hospitalière (d'après le Quotidien d'ORAN, 10 Juin 2006) a déclaré lors de la présentation du programme national de lutte contre le cancer, que l'Algérie s'apprête à introduire un vaccin protégeant contre le cancer du col de l'utérus dès que les formalités administratives, tel que l'enregistrement du médicament, seront faites (voir Annexes 8 et 9). On espère bien que cette déclaration ne reste pas qu'une encre sur papier.

Références

Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

➤ A

- 📖 - Abeler VM, Holm R, Nesland JM et al. (1994) *Small cell undifferentiated carcinoma of the cervix. A clinicopathologic study of 26 patients. Cancer* 73: 672-7
- 📖 - ACCP. *Prévention du cancer cervical. Aide-mémoire. Traiter les lésions cervicales précancéreuses.* www.alliance-cxca.org, consulté le 12 octobre 2009
- 📖 - Aubin F, Prétet JL, Mougin C (2003) *Papillomavirus humains : Biologie et pathologie tumorale.* EM Inter, TEC et DOC Lavoisier, Paris, p 57

➤ B

- 📖 - Bernard H U (2002) *Gene expression of genital human papillomavirus and considerations on potential antiviral approaches. Antivir. Ther.* 7: 219-37
- 📖 - Berrébi A, Badiou W, Duclusaud A. (2008) *Fréquence, persistance et récurrence des lésions à HPV du col utérin chez les patientes séropositives pour le VIH. Gynécologie, obstétrique et fertilité* 36:521-4
- 📖 - Bethesda (1990) *The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses: developed and approved at the National Cancer Institute Workshop in Bethesda, Maryland, December 12-13, 1988. Hum Pathol* 21: 704-8
- 📖 - Body G, Calais G, Fetisso F, Le Flochi O, Lansac J. *Cancer du col de l'utérus.* EMC (Paris-France), Gynécologie 1998 : 26-37.
- 📖 - Bosch FX, Lorincz A, Munoz N et al. (2002) *The causal relation between human papillomavir and cervical cancer. J Clin Pathol* 55: 244-65
- 📖 - Bosch FX, Manos MM, Munoz N (1995) *Prevalence of HPV in cervical cancer. J Natl Cancer Inst* 87: 796-802
- 📖 - Bouffard et al. (1978) *Cancers du col utérin au stade avancé observés à l'hôpital Principal de Dakar. Médecine d'Afrique Noire* 25 (3) : 157-158
- 📖 - Bourgaul Villada I (2013) *Vaccination against HPV-16 for vulvar intraepithelial neoplasia. N Engl J Med* 362: 655-56
- 📖 - Bousarghin L, Touzé A, Sizaret PY, Coursaget P (2003) *Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. J Virol* 77: 3846-50

➤ C

📖 - Cabanne Pet Bonenfant JL. (1980) *Anatomie pathologique – principe de pathologie générale et spéciale*. Edition : Maloine S.A. ; 1094-1103

📖 - Clavel C, Masure M, Bory JP et al. (2001) *Human Papillomavirus testing in primary screening for the detection of high-grade cervical lesions: a study of 7932 women*. *BJC* 89: 1616-23

📖 - Castle PE, Schiffman M, Herrero R et al. (2005) *A prospective study of age trends in cervical human papillomavirus acquisition and persistence in Guanacaste, Coctarica*. *J Infect Dis* 191: 1808- 16

📖 - Castle PE, Solomon D, Schiffman M, Wheeler CM for the ALTS Group (2005) *Human Papillomavirus Type 16 infections and 2-Year absolute risk of cervical precancer in Women with equivocal or mild cytologic abnormalities*. *J Natl Cancer Inst* 97: 1066-71

📖 - Charbonnier AS, Kohrgruber N, Kriehuber E et al. (1999) *Macrophage inflammatory protein 3alpha is involved in the constitutive trafficking of epidermal langerhans cells*. *J Exp Med* 190: 1755-68

📖 - Council of the European Union (2003) *Council recommendation of 2 December 2003 on cancer screening*. *Official J Eur Union L* 327: 34-38

📖 - Culp TD, Budgeon LR, MarinKovich MP et al. (2006) *Keratinocyte-secreted laminin 5 can function as a transient receptor for human papillomaviruses by binding virions and transferring them to adjacent cells*. *J Virol* 80: 8940-50

📖 - Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW et al. (2005) *Persistent high risk HPV infection associated with development of cervical neoplasia in a prospective population study*. *J Clin Pathol* 58: 946-50

📖 - Cuschieri KS, Whitley MJ, Cubie HA (2004) *Human papillomavirus type specific DNA and RNA persistence-implications for cervical disease progression and monitoring*. *J Med Virol* 73: 65-70

📖 - Cuzick J (2002) *Role of HPV testing in clinical practice*. *Virus Res* 89: 263-9

➤ D

📖 - Decaussin-Petrucci M., Décembre 2006, *Lésions élémentaires des cellules et des tissus*. <http://lyon-sud.univ-lyon1.fr/D1/Ana_Path/Lesions_Elementaires_Presentation.pdf>.

- 📖 - Diallo et al. (1992) *Epidémiologie et pronostic du cancer du col utérin. Expérience de la clinique universitaire de gynéco-obstétrique IGNACE DEEN de Conakry en 10 ans (1982-1991). Dakar médical ; 37: 199-204.*
- 📖 - Da Silva DM, Velders MP, Nieland JD et al. (2001) *physical interaction of human papillomavirus virus-like particles with immune cells. Int Immunol 13: 633-41*
- 📖 - Detournay B, Granados-Canal D, El-Hasnaouil A. *Estimation de l'incidence des infections à papillomavirus en France. Gynecol Obstet Fertil.2009;37:125-30*
- 📖 - De Villiers EM, Fauquet C, Broker TR et al. (2004) *Classification of papillomaviruses. Virology 324: 17-27*
- 📖 - De Brux J (1982) *Histologie gynecologique Edition : 2^{ème} édition Masson p534*
- 📖 - Dos Santos IS, Beral V (1997) *Socio-economic differences in reproductive behaviour. IARC Scientific Publications 138:285-308*
- 📖 - Douvier S. HPV : Les vaccinations. <http://www.femmeetenfant.net/pages/fichiers/congres/gilly/samedi/hpv-vaccinations.pdf>, consulté le 8 septembre 2010.
- 📖 - Drouin P., Fortier M., Stuart G. et Roy M. *New gynecologic cancer staging. Gynecologic Oncology. Ed: Lancet, 1999; 158- 159*

➤ F

- 📖 - Fahey mt, irwing l, macask p (1995) *meta-analysis of pap test accuracy, am j epidemiol: 141: 680-89*
- 📖 - Ferlay L, Bray F, Pisani P, Parkin DM (2004) *GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence world-wide IARC CanceBase N°5, Version 2.0. Lyon IARC Press*
- 📖 - Flores ER, Lambert PF (1997) *Evidence for a switch in the mode of human papillomavirus type 16 DNA replication during the viral life cycle. J Virol 71: 7167-79*
- 📖 - Franceschi S (2005) *The IARC commitment to cancer prevention: the exemple of papillomavirus and cervical cancer. Recent Results Cancer Res 166: 277-97. Review*
- 📖 - Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A (2001) *Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. CMAJ 164: 1017- 25*
- 📖 - Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP et al. (1999) *Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for servical cancer. J Infect Dis 180: 1415-23*

📖 - Franco EL et al. (2000) *Versus Pap taesting in the screening of cervical cancer precursor in Newfoundland, Canada, 18 th International HPV conference, Barcelone, Espagne.*

📖 - Frazer IH, Thomas R, Zhou J et al. (1999) *Potential strategies utilised by papillomavirus to evade host immunity. Immunol Rev 168: 131-42*

📖 - Frenczy A. (1995) *Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata acuminata. A J of Obsterics and Gynecology 172: 1331-39*

📖 - Frisch M, Glimelius B, Van den Brule AJC. (1997) *Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. N Engl J Med 337: 1350-8*

➤ G

📖 - Gandar R (1990) *Le dépistage cytologique du cancer du col utérin, Rev. Fr. Gynécol. Obstét 80 : 6*

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

📖 - Gewin L, Gallowy DA (2001) *E box-dependent activation of telomerase by human papillomavirus type 16 E6 does not require induction of c-myc. J Virol 75: 7198-201*

📖 - Girolou T, Florin L, Chäfer F et al. (2001) *Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate. J Virol 75: 1565-70*

📖 - Giuliano AR, Harris R, Sedjo RL et al. (2002) *Incidence, prevalence , and clearance of type-specific human papillomavirus infections: The Young Women's Health Study. J Infect Dis 186: 462-9*

📖 - Gombe Mbalawa Ch, Taty J, Mabengo P et al. (1984) *Les cancers gynécologiques et mammaires à Brazzaville. Réflexions à propos de 195 cas. Rev. Méd. Côte d'Ivoire 69 : 15-23*

➤ H

📖 - Hamid- shéri , Sekfali M : *Bulletins du registre du cancer de Sétif : 1990- 1994*

📖 - Hammouda D, Bouhadef A, Oublil M : *Bulletins des registres des tumeurs d'Alger- INSP 1993-2002.*

📖 - Hanselaar A, Van LM, Schuurbiens O et al. (1997) *clear cell adenocarcinoma of the vagina and cervix. An update of the central Netherlands registry showing twin age incidence peaks. Cancer 79: 2229-36*

📖 - Hantz S, Alain S, Denis F. (2005) *Vaccins anti-papillomavirus et prévention du col de l'utérus. Press Med. 34 :745-53*

📖 - Herrero R. et al. (2000) *Population based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. J Natl Cancer Inst 92: 464- 74*

📖 - Hidesheim A, Schiffman M, Bromley C (2001) *Human papillomavirus type 16 variants and risk of cervical cancer. J Natl Cancer Inst 93: 315- 18*

📖 - Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T (1999) *Natural history of displasia of the uterine cervix. J of the Nat Cancer Inst 91: 252-58*

📖 - Hordé P (Juin 2014) *Immunohistochimie- Definition, Santé-medicine.net.*

📖 - Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME et al. (1999) *Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening : results of a population-based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. Cancer (Cancer cytopathol) 87: 48-55*

➤ I

📖 - IARC Working Group. *Attributable Causes of cancer in France in the Year 2000. IARC Press.2007 : 3-29*

📖 - Institut National du Cancer. *Le cancer du col de l'utérus en France : état des lieux 2010. Boulogne-Billancourt : INCa; 2010.*


📖 - International Collaboration of Epidemiological studies of Cervical Cancer. *Carcinoma of the cervix and reproductive factors: Collaborative reanalysis of individual data on 16,543 women with cervical cancer and 33,542 women without cervical cancer from 25 epidemiological studies. Int J Cancer.2006; 119: 1108-24*


➤ J


📖 - Joffe GP et al. (octobre 1992) *Multiple partners and partner choice as risk factors for sexually transmitted disease among female college students. Sexually transmitted diseases 19: 272-78*

➤ K


📖 - Khan M, Castle P, Lorincz A et al. (2005) *The Elevated 10-Year Risk of Cervical Precancer and Cancer in Women With Human papillomavirus (HPV) Type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in Clinical Practice. J Natl Cancer Inst 97: 1072-9*


 - Khenchouch A. *le cancer du col de l'utérus: coinfection par le papillomavirus humain et par l'epstein-barr virus. Thèse pour l'obtention de diplôme de Doctorat en science, Sétif, Université Farhet Abbes Sétif 1, Faculté des sciences de la nature et de la vie 2014, p : 145*


 - Kotlhetoff KL et al. (Mai 1998) *Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. Sexually transmuted diseases 25: 243-50*

 - Koutsky L (1997) *Epidemiology of genital human papillomavirus infection. Am J Med 102: 3-8*


➤ L

 - Laurent R (1996) *Infections génitales à papillomavirus. Rev Prat 46: 1961-8*


 - Lehman CW, Botchan MR (1998) *Segregation of viral plasmids depends on tethering to chromosomes and is regulated by phosphorylation. Proc Natl Acad Sci USA 95: 4338-43*


 - Limay A, Connor Amsy J, Huang X, Luff R (2003) *Comparative analysis of conventional. Papanicolaou tests and a fluid-based thin-layer method. Arch Pathol Lab Med 127: 200-4*


➤ M

 - Marie G, Barjot Ph, Crouet H, Mace-Lesech J, Dommesent D, Uzan M. (1993) *Le cancer cervical de la femme jeune. J. Gynécol. Obstét. Biol. Reprod. 22 : 743- 47.*

 - Mcintoch N. *Human papillomavirus and cervical cancer. JHPIEGO 2000*

 - Mcowan AG et al., (1999) *Advising patients with genital warts- a consensus approach. Inter Nat J of STD and AIDS 9:619-22*

 - Michel G., Castaigne D. *Modes d'extension des cancers gynécologiques. Sandoz Éd. Paris, 1995 ; 21-27.*

 - *Ministere De La Sante Et Des Solidarites, Direction Generale De La Sante, Avis Du Conseil Supérieur D'hygiène Publique De France, Section maladies transmissibles relatif à la vaccination anti-papillomavirus type 16 et 18 (Séance extraordinaire du 05 décembre 2006), p 3.*

 - Mokhtari L, Midoun N, Ahmed Fouatih Z: *Bultin du register des cancers d'Oran*

- 📖 - Monsonogo J. (2003) *Infections génitales à papillomavirus (HPV) : mise au point, nouveaux concepts et applications*. In : Michel Segondy « Infection virales sexuellement transmissibles » *Guide Médi/BIO 149* : 176
- 📖 - Monsonogo J, Cox T, Cuzick J et al. (2006) *EUROGIN Expert's Consensus Conference Report. Innovations in cervical cancer prevention*. *Gynecol Oncol* 103 : 1-24
- 📖 - Monsonogo J. (2007) *Traité des infections et pathologies génitales à papillomavirus*. Springer, Paris, p 4- 35, p435-50
- 📖 - Monsonogo J. (2002) *Du dépistage à la prise en charge des atypies cytologiques mineures ou mal définies du col : progrès récents*. *Revue française des laboratoires*, Octobre 2002, N) 346, Elsevier, 41-48
- 📖 - Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, et al. (2002) *Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study*. *Lancet* 359(9312):1085–1092
- 📖 - Mork J, Lie K, Glatte E et al. (2001) *Human papilloma virus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck*. *N Engl J Med* 344: 1125-31
- 📖 - Moscicki AB, Schffman M, Kjaer S, Villa LL (2006) *Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer*. *Vaccine* 24 (Suppl 3): S42-S51
- 📖 - Mouele Sone A, Essomba M, Fezeu M, Amana JP, Ngnah A (1994) *Intérêt de la radiothérapie dans le traitement du cancer du col utérin dans les pays en développement*. *Médecine d'Afrique Noire* 41(6) : 373-378.
- 📖 - Mourits MJ, Pieters WJ, Hollema H (1992) *Three-group metaphase as a morphologic criterion of progressive cervical intraepithelial neoplasia*. *Am J Obstet Gynecol* 167: 591-5
- 📖 - Munoz MD, Bosch MD, de Sanjosé MD et al. (2003) *for the International Agency for research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer*. *N Engl J Med* 384: 518-27
- 📖 - Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S et al. (2003) *STUDY GROUP. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer*. *N. Engl. J. Med.* 348: 518-27
- 📖 - Munoz N, Bosch FX, Castellsague X et al. (2004) *Against which human papillomavirus types shall we vaccinated and screen? The international perspective*. *Int J Cancer* 111: 278-85

📖 - Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, et al. (2002) Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 359(9312):1093-101

➤ N

📖 - Nasiell K, Roger V, Nasiell M (1986) Behaviour of mild cervical dysplasia during long-term follow-up. *Obstet Gynecol* 67: 665-9

📖 - N'guessan K, Kouakou F, Loué V, Angoi V, Abauleth Y, Boni S. (2009) LE CANCER DU COL DE L'UTERUS: Aspects épidémiologiques et prise en charge en milieu africain. *MALI MEDICAL. TOME XXIV N°3*:28

➤ O

📖 - Organisation Mondiale de santé OMS (2007) La lutte contre le cancer du col de l'utérus : guide des pratiques essentielles. Bibliothèque de l'OMS ISBN 9789242547009 (NLM classification : WP 480)

📖 - OMS. Relevé épidémiologique hebdomadaire. 2009; 15: 118-131.

📖 - Orth G, Favre M, Ramoz N. (1997) Human papillomavirus: general features. *Clin Dermatol* 15: 181-98

📖 - Ostor AG (1995) Pandora's box or Ariadne's thread! Diagnostic significance of microinvasion in the uterine cervix. Squamous lesions. *Pathol Annu* 30: 103-36

📖 - Ostor AG (1993) Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 12: 186-92

➤ P

📖 - Park J, Hwang E, Park S. Physical status and expression of HPV genes in cervical cancers. *Gynecol Oncol*.1997;65:121-9

📖 - Peitsaro P, Johansson B, Syrjanen S (2002) Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J Clin Microbiol* 40: 886-91

📖 - Perty KU (2002) Factors associated with increased risk of prevalence and incident grade III cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer among women with Papanicolaou tests classified as grade I or II cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obst and Gynecology* 186: 28-34

📖 - Peyton C L et al. (2001) *Deteminants of humain papillomavirus detection in a US population. The Journal of infectious diseases* 183: 1554-64

📖 - Pretet JL, Dalstein V, Monnier-Benoit S, Delpeut S, Mougin C.(2004) *High risk HPV load estimated by Hybrid Capture II correlates with HPV16 load measured by real-time PCR in cervical smears of HPV16-infected women. J Clin Virol ; 31(2):140-7*

➤ Q

📖 - Quenum C., Camain R., Baylet R. (1971) *Le cancer en Afrique Noire. Epidémiologie et pathologie géographique du cancer en Afrique. Médecine d'Afrique Noire* 18 (3) : 165-186

➤ R

📖 - Rappillard A (2010) *Les papillomavirus et le cancer du col de l'utérus, Diplome d'etat de docteur en pharmacie, Universite claudes bernard - Lyon 1 faculte de pharmacie institut des sciences pharmaceutiques et biologiques, 16 décembre 2010: 25-26-27-61-109-121.*

📖 - Ratiarson A (2010) *L'urgence de la prévention du cancer du col de l'utérus dans les pays en voie de développement. Virologie* 14 (4) : 223-5

📖 - Reagan JW, Seidmann IL, Saracusa Y (1953) *The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. Cancer* 6: 224-34

📖 - Reithdorf S, Reithdorf L, Milde-Langosch K et al. (2000) *Differences in HPV 16 and HPV 18 E6/E7 oncogene expression between in situ and invasive adenocarcinomas of the cervix uterin. Virchows Arch* 437: 491-500

📖 - Remontet L, Estève J, Bouvier AM et al. (2003) *Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. Rev Epidemiol Sante Publique. 2003 Feb;51: 3-30*

📖 - Reuter S, Bartelmann M, Vogt M et al. (1998) *APM-1, a novel human gene, identified by aberrant co-transcription with papillomavirus oncogenes in a cervical carcinoma cell line, encodes a BTB/POZ-zinc finger protein with growth inhibitory activity. EMBO J* 17: 215-22

📖 - Richardson H, Kelsall G, Tellier P et al. (2003) *The natural history of type specific human papillomavirus infections in female university students. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 12: 485-90

📖 - Richart RM (1973) *Cervical intraepithelial neoplasia. Pathol Annu* 8 : 301-28

📖 - Riethmuller D (2007) *Conduite à tenir devant un test HPV Positif. Réalités en Gynécologie-Obstétrique 118 : 2*

📖 - Riethmuller D, Schaal J.P, Mougin C. *Epidémiologie et histoire naturelle de l'infection génitale à papillomavirus humain. Gyn Obst Fert, 2002 ; 30 : 139-146*

📖 - Robyr R (2002) *Etude pilote de dépistage du cancer du col de l'utérus dans une région rurale camerounaise. Thèse Med. Genève, 10292.*

📖 - Ronco G, Segnan N, Giorgi-Rossi P et al. (2006) *Human Papillomavirus Testing and Liquid-Based Cytology : Result and Recruitment from the New technologies for Cervical Cancer Randomized Controlled Trial. J Natl Cancer Inst 98: 765-74*

📖 - Rozendaal L, Westerga J, van der Linden JC et al. (2000) *PCR based high risk HPV testing is superior to neural network based screening for predicting incident CIN 3 in women with normal cytology and borderline changes. J Clin Pathol 53: 606-11*

➤ S

📖 - Sangaret M, Koné N, Houphouet K, Bohoussou K, Brettes, Djahan Y, et al. (1986) *Cancer du col utérin en Côte d'Ivoire : Aspects épidémiologiques. Revue médicale de Côte d'Ivoire 75 :112-118.*

📖 - Schiffman M, Krüger Kjaer S (2003) *Natural history of anogenital human papillomavirus infection and neoplasia. J Natl Cancer Institute Monographs 31: 14-19*

📖 - Schlegel R. *Papillomaviruses and human cancer. Semin Virol.1990;1: 297-306.*

📖 - Segondy M. (2008) *Classification des papillomavirus (HPV). La Revue Francophone des Laboratoires 405:23-5*

📖 - Seigneurin J. M. et Morand P. *Virologie moléculaire médicale. Edition : Lavoisier, 1997 ; 309- 310 - 312*

📖 - Shipman SD, Bristow RE (2001) *Adenocarcinoma in situ and early invasive adenocarcinoma of the uterine cervix. Curr Opin Oncol 13: 394-8*

📖 - Smith JS, Green J et al.(2003) *Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. Lancet 361: 1159-1167.*

📖 - Smith JS, Herrero R, Bosetti C, et al. (November 6, 2002) *Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. Journal of the National Cancer Institute 94(21):1604–1613*

📖 - Smith JS, Lindsay L, Keys J et al. (2007) *HPV type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical neoplasia: A meta-analysis update. Int J Cancer 121: 621-32*

📖 - Smith J, Munoz N. (2002) Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 185: 324-31

📖 - Sobhani I. (2000) Virus et cancer de l'anus. *Lett Hepatogastroenterol* 5: 235-40

📖 - Sobhani I, Vuagnat A, Walker F et al. (2001) Prevalence of high grade dysplasia and cancer in the anal canal in human papilloma virus-infected individuals. *Gastroenterology* 120: 857-66

📖 - Stock RJ, Zaino R, Byndy BN et al. (1994) Evaluation and comparison of histopathologic grading systems of epithelial carcinoma of the uterine cervix: Gynecologic Oncology Group studies. *Int J Gynecol Pathol* 13: 99-108

📖 - Studenrauch F, Hummel M, Iftner T, Laimins LA (2000) The E8E2C protein, a negative regulator of viral transcription and replication, is required for extrachromosomal maintenance of human papillomavirus type 31 in keratinocytes. *J Virol* 74: 78-1186

📖 - Sun CA, Liu JF, Wu DM et al. (2002) Viral load of high-risk Human Papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynaecol Obstet* 76:41-7

➤ T

📖 - Thomas D. et Brenes M. (2001) Risk Factors for in situ and squamous cell cervical carcinoma. *American Journal of Epidemiology* 153: 732 -739.

📖 - Thomas MC, Chiang CM (2005) E6 oncoprotein represses p53-dependent gene activation via inhibition p53 degradation. *Mol Cell* 17: 251-64


📖 - Thome Saint - Paul M; Bremond A; Rochet Y. (1993) Cancer du col utérin avant 35 ans: Aspects épidémiologiques et pronostiques. Etude rétrospective de 46 cas de cancers du col utérin avant 35 ans, à partir d'une série de 449 cas de stades IA2 et IV. *J. Gynécol. Obstét. Biol. Reprod.* 22 : 737-742


➤ V


📖 - Von Knebel-Doerberitz M, Syrjanen KJ (2006) Molecular markers: how to apply in practice. *Genecol Oncol* 103: 18-20

➤ W


📖 - Walboomers J, Jacobs M, Manos M et al. (2006) Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 189: 12-9


 - Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T et al. (1999) Type specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* 341: 1633


 - Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP et al. (2005) Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis* 191: 731-8

 - Woodman CB, Collins S, Winter H et al. (2001) Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 357: 1831-6


➤ Y


 - Yaker A, Dekkar N: *profile de la morbidité cancéreuse en Algérie*

 - Yomi J, Monkam G, Tagni D, Doh A (1996) Traitement des cancers du col utérin: notre expérience à l'Hôpital Général de Yaoundé à propos d'une série de 111 malades. *Médecine d'Afrique Noire* 43 (3) : 150-154

 - Yuan CC, Wang PH, Lai CR et al. (1998) Prognosis-predicting system based on factors related to survival of cervical carcinoma. *Int J Gynecol Obstet* 63: 163-7

➤ Z

 - Zhang B, Chen W, Roman A (2006) The E7 proteins of low-and high-risk human papillomaviruses share the ability to target the pRB Family member p130 for degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 437-42

 - Zur Hausen H. (1977) Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. *Curr Top Microbiol Immunol* 78: 1-30

ANNEXES

ANNEXE 1

La classification de PAPANICOLAOU (1943)

- **CLASSE I** : cellules normales.
- **CLASSE II** : frottis inflammatoires avec des cellules atypiques.
- **CLASSE III** : frottis suspect : présence de cellules anormales ne pouvant être considérées ni comme bénignes ni comme malignes.
- **CLASSE IV** : présence de cellules malignes isolées.
- **CLASSE V** : présence de cellules malignes en placard.

La classification de MAC KAY (1953)

- **GRADE I** : cellules normales.
- **GRADE II** : cellules atypiques, généralement inflammatoires.
- **GRADE IIIA** : dysplasie légère à modérée (CIN 1 à 2)
Cellules intermédiaires ou superficielles à noyau normal (0 à 10% sont indifférenciées).
- **GRADE IIIB** : dysplasie modérée à sévère (CIN 2 à 3)
(10 à 20% des cellules sont indifférenciées).
- **GRADE IIIC** : dysplasie sévère à CIS
(20 à 30% des cellules sont indifférenciées).
- **GRADE IV** : il s'agit d'un carcinome in situ (CIS) avec ou sans envahissement glandulaire (plus de 30% de cellules sont indifférenciées).
- **GRADE V** : carcinome invasif.

ANNEXE 2

TERMINOLOGIE SELON LE SYSTEME DE BETHESDA (EN CORRELATIONS)

O.M.S	RICHART	BETHESDA
Dysplasie légère	CIN 1	Lésion épidermoïde intra-épithéliale de bas grade avec ou sans HPV
Dysplasie modérée ou moyenne	CIN 2	Lésion épidermoïde intra épithéliale de haut grade avec ou sans HPV
Dysplasie sévère Carcinome in situ	CIN 3	
Carcinome épidermoïde invasif	Carcinome épidermoïde invasif	Carcinome malpighien épidermoïde invasif
Dysplasies glandulaires	C.I.G.Ns	Lésions glandulaires intra épithéliales de bas et haut grade
Adénocarcinome in situ	A.C.I.S	Adénocarcinome in situ
Adénocarcinome invasif	Adénocarcinome invasif	Adénocarcinome invasif

ANNEXE 3

TERMINOLOGIE EN CYTOLOGIE CERVICO-VAGINALE DE PAPANICOLAOU A BETHESDA

CYTOLOGIE			CONCLUSIONS
PPN (1943)	RICHART (1975)	BETHESDA (1968)	
		Ininterprétable	- FCV ininterprétable - paucicellulaire - Hémorragique - mal fixé - très inflammatoire - très cytolytique
Classe I		Normal	Frottis d'aspect normal
Classe II		Evaluation du statut hormonale	Frottis régressifs - sous pilules - près ménopause - post partum (avec ou sans dystrophie) (avec ou sans inflammation)
		Inflammation	- métaplasie malpighienne différenciée (avec ou sans inflammation)
Classe III Classe IV Non cohérentes avec les classifications actuelles		Réparation	- Métaplasie jeune ou peu différenciée (avec ou sans inflammation) - Reépithélisation jeune
	Herpes		- Frottis inflammatoire avec signes herpétiques
		Lésion de bas grade	Frottis avec signes de condylome sans atypie
	CIN I		Frottis avec signes de condylome avec atypies légères
	CIN II	Lésion de haut grade	Frottis avec signes de dysplasie moyenne (avec ou sans condylome)
	CIN III		- Frottis avec atypies sévères - Frottis de dysplasie grave
	Infiltrant	Carcinome	Frottis avec atypies témoignant d'un probable carcinome infiltrant

ANNEXE 4

CLASSIFICATION DE L'OMS (1968)

Elle induit le terme de dysplasie suivant la gravité des lésions, elle est classée en :

- dysplasie légère ;
- dysplasie modérée ;
- dysplasie sévère ;
- carcinome in situ.

ANNEXE 5**CLASSIFICATION DE RICHART (1973)**

Elle induit le terme de Néoplasie Intraépithéliale et propose une classification en trois grades :

- **CIN I** correspond à la dysplasie légère, caractérisée par :
 -) Une maturation cellulaire désordonnée ;
 -) Des atypies cellulaires à travers toute l'épaisseur de l'épithélium ;
 -) De nombreuses cellules binuclées ;
 -) Des cellules indifférenciées limitées aux couches les plus profondes.
- **CIN II** correspond à la dysplasie modérée, marquée par :
 -) La disparition d'une maturation ordonnée et la présence d'atypies cellulaires sont ici majoritaires ;
 -) L'épithélium est composé de 70 % de cellules indifférenciées.
- **CIN III** correspond à la dysplasie sévère et au carcinome *in situ* dans ce cas :
 -) Les cellules néoplasiques sont présentes à travers toute l'épaisseur de l'épithélium sans effraction de la basale ;
 -) Absence d'organisation et de maturation ;
 -) Présence des divisions mitotiques à tous les stades.

ANNEXE 6**- CLASSIFICATION TNM (1992)**

Tx : tumeur primitive inclassable

T0 : pas de signe de tumeur primitive

Tis : carcinome in-situ

T1 : carcinome limité au col

T1A : invasif pré-clinique

T1A1 : invasion du stroma < 3mm en profondeur et < 7mm horizontalement,

T1A2 : invasion du stroma > 3 mm et < 5 mm en profondeur et < 7mm horizontalement

T1B : tumeur limitée au col

T1B1 : lésion < 4 cm

T1B2 : lésion > 4 cm

T2 : tumeur s'étendant au-delà de l'utérus mais sans atteindre les parois ni le tiers inférieur du vagin.

T2A : sans envahissement du paramètre,

T2B : avec envahissement du paramètre

T3 : tumeur s'étendant jusqu'au tiers inférieur du vagin sans extension à la paroi (**T3A**), s'étendant à la paroi pelvienne et/ou hydronéphrose ou rein muet (**T3B**)

T4 : atteinte de la muqueuse vésicale ou rectal (**T4A**) ou métastases à distance (**T4B**).

ANNEXE 7**- CLASSIFICATION CLINIQUE UICC (1992)**

- **Tis** : carcinome in situ
- **T1a1** : carcinome micro-invasif avec invasion stromale minime.
- **T1a2** : carcinome micro-invasif avec une composante invasive de 5 mm ou moins en profondeur, et de 7 mm ou moins latéralement.
- **T1b** : Carcinome invasif clinique.
- **T2 a** : carcinome étendu au vagin à l'exception du tiers inférieur
- **T2b** : carcinome étendu aux paramètres, mais respectant la paroi pelvienne.
- **T3a** : carcinome étendu au 1/3 inférieur du vagin, sans extension paramétriale.
- **T3b** : carcinome s'étendant à la paroi pelvienne, et/ou causant une hydro-néphrose ou un rein muet.
- **T4** : tumeur envahissant à la muqueuse de la vessie ou du rectum, et/ou au delà du pelvis.
- **M1** : métastases à distance.

ANNEXE 8

Le Quotidien d'Oran
Samedi 10 juin 2006

13

Le premier vaccin contre le cancer utérin

Le premier vaccin protégeant contre le cancer de l'utérus, fabriquée par le laboratoire américain Merck, a reçu jeudi un feu vert pour sa commercialisation, émis par l'agence américaine de régulation des médicaments, la Food and Drug Administration (FAD).

Le vaccin est destiné aux jeunes filles de 9 à 26 ans et protège des infections contre les papillomavirus (HPV) responsables des lésions utérines évoluant en cancer,

a indiqué la FAD dans un communiqué. Ces infections sont à l'origine de 70% des cancers du col de l'utérus.

Le Gardasil s'est également montré efficace contre des virus HPV causant des infections du vagin et de la vulve qui évoluent en lésions cancéreuses.

« Ce vaccin est une avancée importante dans la protection de la santé des femmes en immunisant contre des infections responsables d'un grand nombre de cancers utérins »,

a souligné dans un communiqué Andrew Von Eschenbach,

l'administrateur par intérim de la FAD.

Les quatre essais cliniques conduits sur 21.000 femmes aux Etats-Unis et dans plusieurs autres pays par Merck ont montré que ce vaccin était efficace à près de 100% contre les quatre types de HPV responsables des lésions précancéreuse du col de l'utérus, du vagin et des lésions de la vulve ainsi que de verrues génitales.

ANNEXE 9

Le Quotidien d'Oran
Dimanche 11 juin 2006 **15**

UN PROGRAMME NATIONAL LANCE

L'Algérie, premier pays à importer un vaccin américain contre le cancer ?

Le ministre de la santé et de la réforme hospitalière Amar Tou a indiqué que l'Algérie s'apprête à introduire le premier vaccin protégeant contre le cancer du col de l'utérus, fabriqué par le laboratoire américain Marck, qui a reçu jeudi dernier, le feu vert pour sa commercialisation, par l'agence américaine de régulation des médicaments.

M. AZIZA

Amar Tou a déclaré lors de la présentation du programme nationale de lutte contre le cancer, hier, au siège de son département que l'Algérie pourra importer le vaccin « dès que les formalités administratives, telles que l'enregistrement du médicament, seront faites », ajoutant que « l'introduction de ce vaccin se fera peut être

bien avant les Européens dont certains ont affirmé qu'ils importeront le vaccin dans deux ans ».

Pour le ministre, le vaccin doit être enregistré par les Américains au profit de l'Algérie. « Je pense que c'est possible puisque les Américains marquent un intérêt particulier au marché du médicament en Algérie », explique-t-il, mais il faut savoir que sur le nombre

prévu des malades cancéreux en 2006, qui est de 26.100 nouveaux cas dont 13.400 femmes, seules 1.198 seront atteints du cancer du col de l'utérus. Qu'en est-il alors des autres formes de cancer telles que le cancer du sein, du colon rectum, des poumons, de l'estomac, de la peau dont le vaccin n'est encore découvert.

ANNEXE 10**FICHE TECHNIQUE DE MARQUAGE DE L'HPV HR PAR IMMUNOHISTOCHEMIE**

A partir des blocks de biopsies paraffinées on fait des coupes de 2 à 3µm d'épaisseur à l'aide d'un microtome et on passe aux étapes suivantes :

- 1-** Etalement des coupes sur des lames silanisées
- 2-** Incubation à l'étuve ($T^{\circ} = 40^{\circ}$) pendant 24 heures
- 3-** Déparaffinage avec 4 bains de xylènes (5 mn pour chaque bain)
- 4-** Réhydratation avec de l'alcool absolue (4 bain, 5mn pour chaque un)
- 5-** Deux bains de l'eau distillée (5 mn pour chaque un)
- 6-** Préchauffage de la solution de démasquage (tampon Tris-EDTA buffer, pH 9.0, 0.05%) pendant 10mn dans un bain marie chauffé à 98°
- 7-** Déposer les lames dans la solution de démasquage présente dans le bain marie pendant 40mn
- 8-** Refroidissement : pendant 20mn
- 9-** Déposer les lames dans un bain de l'eau distillée pendant 5mn
- 10-** Préparer une chambre humide
- 11-** Essuyer les lames et entourer le prélèvement par le marqueur DACOPEN
- 12-** Déposer une goutte de l'AC monoclonal anti HPV (clone : K1H8) => anticoprps primaire
- 13-** Incuber pendant 2h
- 14-** Préparer la solution de lavage PBS (phosphate buffered saline) : dissolution d'un comprimé PBS dans un litre d'eau distillée
- 15-** Faire 2 bains de la solution de lavage PBS (rinçage)
- 16-** Remettre les lames dans la chambre humide
- 17-** Ajouter l'Ac secondaire : Biotine, pendant 30 mn
- 18-** Rinçage avec un bain de la solution de lavage PBS
- 19-** Remettre les lames dans la chambre humide
- 20-** Déposer quelques gouttes de l'eau oxygénée pour chaque prélèvement pendant 10mn
- 21-** Un bain de solution de lavage

22- Remettre les lames dans la chambre humide

23- Ajouter quelques gouttes de 2^{ème} Ac secondaire : Streptavidine pdt 20mn

24- Lavage avec 1 bain de la solution de lavage

25- Remettre dans la chambre humide à température ambiante

26- Ajouter des gouttes de la solution chromogène préparée avec 3 mL de solvant et 3 gouttes de DAB chromogène (30mn à 1h)

27- Coloration :

- Rincer avec de l'eau distillée : 1 bain

- colorer les prélèvements avec l'hématoxyline de MAYER pendant 5mn

- Tremper 1 fois dans un bain de l'eau distillée ammoniacquée

- Rincer avec de l'eau distillée : 1 bain

28- Montage

29- Observation microscopique

ANNEXE 11

QUESTIONNAIRE

Partie réservée à l'enquêteur Dossier N° :

Service : **Ville :** **Consultation le :**

Date enregistrement d'information : Jour..... Mois..... Année..... **Groupe Sanguin**.....

Partie réservée au patient

1. Identification

Nom :

Prénom :

Date et lieu de naissance :à..... (Commune)

Adresse personnelle :

N° de téléphone / portable :

2. Données anthropométriques

Poids :Kg

Taille :cm

IMC : Kg/m² SC :m²

3. Données socio-professionnelles

Etes-vous ?

Célibataire Mariée Veuve Divorcée

Exercez-vous une profession actuellement ? Oui Non Retraite

Quel est votre niveau d'étude ?

Sans niveau Primaire Moyen Secondaire Supérieure

4. Activitégénitale (AG) et Contraception (C) :

Ménarchie Age :ans

Ménopausée ? (AG) Non Oui Age ans

Contraception hormonale (C+) :

Contraception mécanique (C-) :

Age de première grossesse : ans

5. Les antécédents

Les antécédents familiaux :

Avez-vous dans votre famille une personne cancéreuse du col de l'utérus ? Oui

Non Si oui, La mère La tante La sœur

Collatéraux

6. Notion d'Allaitement :

Nombre de G F.....

Nombre d'enfants vivant :

Nullipare (0) rimipare(1) Paucipare (2-5) multipare (>5)

Avez-vous allaité vos enfants ? Oui Non

Si oui,

Mode d'allaitement : Exclusif Mixte

Nombre d'enfants allaité Et chacun pendant (Mois, an(s))

Cumule d'allaitementMois

7. Grade histologique:

C. Epidermoïde CIN I CIN II CIN III

Invasif

Métastase

C.Glandulaire

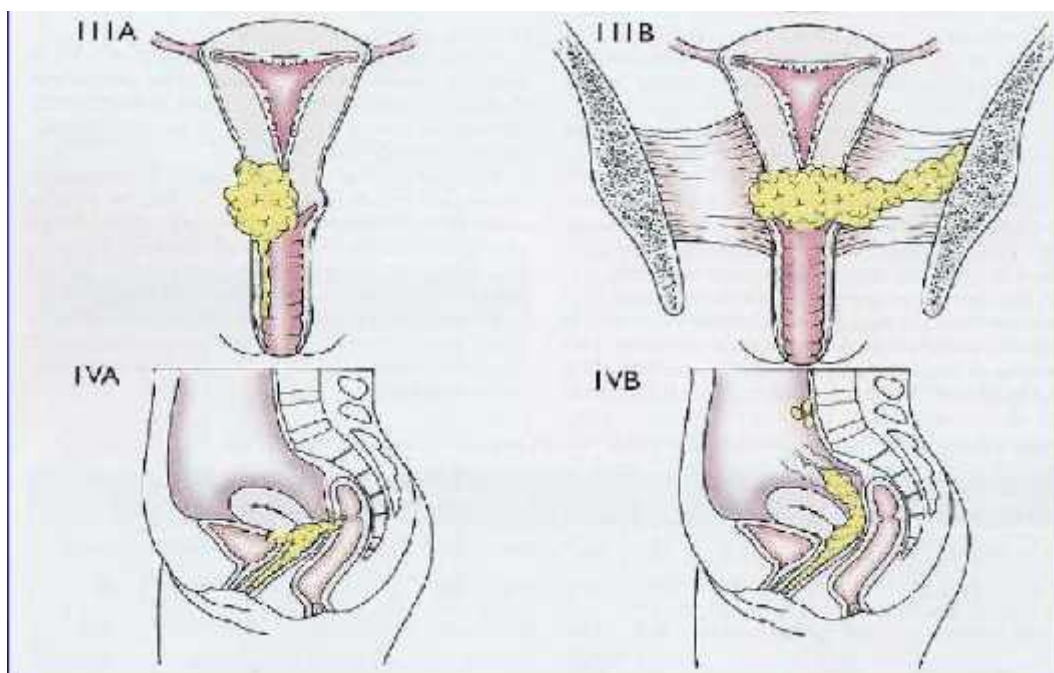
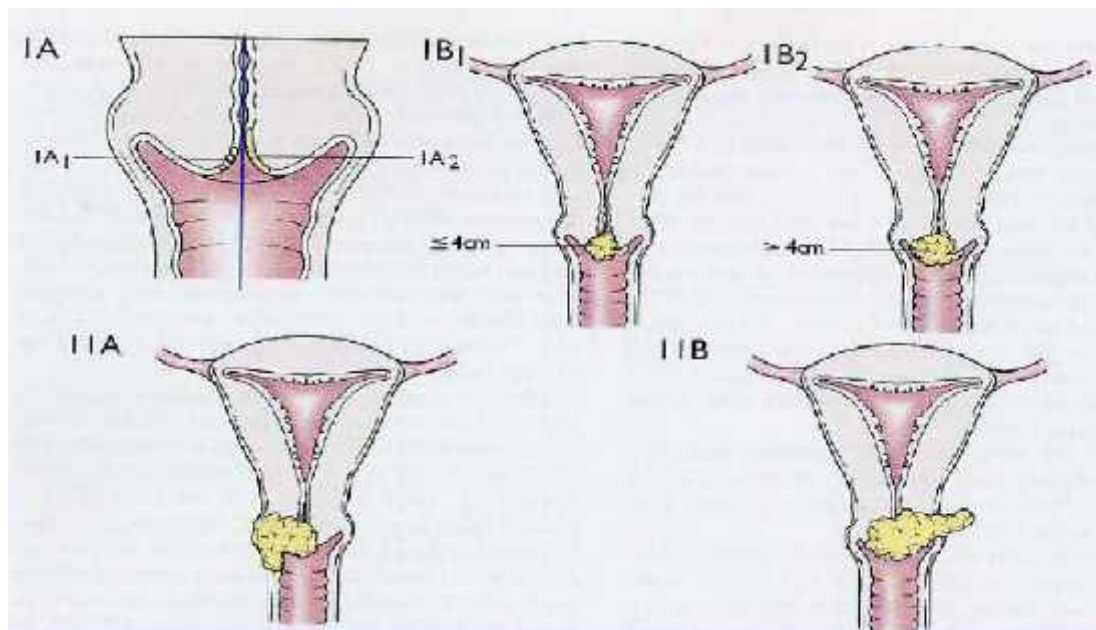
ANNEXE 12

CLASSIFICATION FIGO (2009)

Stade	Définition												
Stade 0	Il s'agit du stade de la <u>maladie précancéreuse</u> , c'est-à-dire, de petites lésions limitées à la couche superficielle (épithélium) du col utérin (qui ressemble à la peau). Ces lésions sont aussi appelées carcinomes in situ* ou néoplasies cervicales intra-épithéliales (CIN)*. Les CIN de grades 1 à 3 sont caractérisés selon que la lésion est limitée à la couche basale de l'épithélium de surface du col utérin (CIN1), atteint la couche médiane (CIN2) ou s'étend à la couche supérieure (CIN3).												
Stade I	C'est le premier stade du <u>cancer invasif</u> . Même s'il n'est parfois pas visible macroscopiquement (à l'œil nu), on observe durant l'examen au microscope des échantillons prélevés lors de biopsies* qu'il s'est étendu dans le stroma, c'est-à-dire, le tissu situé sous la couche supérieure du col utérin. En largeur, la lésion ne s'étend pas au-delà du col proprement dit. En d'autres termes, elle ne s'est pas propagée dans le vagin ou les paramètres*. Selon les dimensions de la lésion et sa visibilité macroscopique, on distingue plusieurs sous-stades. <table border="1" data-bbox="375 840 1361 1220"> <tr> <td>Stade IA</td> <td>Cancer <u>micro-invasif non visible macroscopiquement</u>, qui a envahi moins de 5 mm du stroma et s'est étendu sur moins de 7 mm de largeur.</td> </tr> <tr> <td>Stade IA1</td> <td>Invasion du stroma* inférieure à 3 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.</td> </tr> <tr> <td>Stade IA2</td> <td>Invasion du stroma* entre 3 et 5 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.</td> </tr> <tr> <td>Stade IB</td> <td>Cancer <u>macroscopiquement visible</u> (à l'œil nu) ou cancer micro-invasif plus important que le stade IA2</td> </tr> <tr> <td>Stade IB1</td> <td>Lésion de moins de 4 cm dans son plus grand diamètre.</td> </tr> <tr> <td>Stade IB2</td> <td>Lésion de plus de 4 cm dans son plus grand diamètre.</td> </tr> </table>	Stade IA	Cancer <u>micro-invasif non visible macroscopiquement</u> , qui a envahi moins de 5 mm du stroma et s'est étendu sur moins de 7 mm de largeur.	Stade IA1	Invasion du stroma* inférieure à 3 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.	Stade IA2	Invasion du stroma* entre 3 et 5 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.	Stade IB	Cancer <u>macroscopiquement visible</u> (à l'œil nu) ou cancer micro-invasif plus important que le stade IA2	Stade IB1	Lésion de moins de 4 cm dans son plus grand diamètre.	Stade IB2	Lésion de plus de 4 cm dans son plus grand diamètre.
Stade IA	Cancer <u>micro-invasif non visible macroscopiquement</u> , qui a envahi moins de 5 mm du stroma et s'est étendu sur moins de 7 mm de largeur.												
Stade IA1	Invasion du stroma* inférieure à 3 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.												
Stade IA2	Invasion du stroma* entre 3 et 5 mm en profondeur et inférieure à 7 mm latéralement.												
Stade IB	Cancer <u>macroscopiquement visible</u> (à l'œil nu) ou cancer micro-invasif plus important que le stade IA2												
Stade IB1	Lésion de moins de 4 cm dans son plus grand diamètre.												
Stade IB2	Lésion de plus de 4 cm dans son plus grand diamètre.												
Stade II	Cancer envahissant les tissus au-delà du col, mais n'atteignant pas les os du bassin ni le tiers inférieur du vagin. <table border="1" data-bbox="375 1310 1361 1601"> <tr> <td>Stade IIA</td> <td>Cancer <u>macroscopiquement visible (à l'œil nu)</u> s'étendant au-delà du col, sans envahissement des paramètres*.</td> </tr> <tr> <td>Stade IIA1</td> <td>La lésion visible macroscopiquement est inférieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.</td> </tr> <tr> <td>Stade IIA2</td> <td>La lésion visible macroscopiquement est supérieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.</td> </tr> <tr> <td>Stade IIB</td> <td>Cancer <u>macroscopiquement visible</u> avec envahissement des paramètres*.</td> </tr> </table>	Stade IIA	Cancer <u>macroscopiquement visible (à l'œil nu)</u> s'étendant au-delà du col, sans envahissement des paramètres*.	Stade IIA1	La lésion visible macroscopiquement est inférieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.	Stade IIA2	La lésion visible macroscopiquement est supérieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.	Stade IIB	Cancer <u>macroscopiquement visible</u> avec envahissement des paramètres*.				
Stade IIA	Cancer <u>macroscopiquement visible (à l'œil nu)</u> s'étendant au-delà du col, sans envahissement des paramètres*.												
Stade IIA1	La lésion visible macroscopiquement est inférieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.												
Stade IIA2	La lésion visible macroscopiquement est supérieure à 4 cm dans son plus grand diamètre.												
Stade IIB	Cancer <u>macroscopiquement visible</u> avec envahissement des paramètres*.												
Stade III	Cancer s'étendant à la paroi pelvienne, aux os du bassin et/ou au tiers inférieur du vagin et/ou compressant un ou deux uretères*. <table border="1" data-bbox="375 1691 1361 1803"> <tr> <td>Stade IIIA</td> <td>Aucune propagation dans la paroi pelvienne, mais propagation au tiers inférieur du vagin.</td> </tr> <tr> <td>Stade IIIB</td> <td>Cancer touchant la paroi pelvienne et/ou compressant un ou deux uretères.</td> </tr> </table>	Stade IIIA	Aucune propagation dans la paroi pelvienne, mais propagation au tiers inférieur du vagin.	Stade IIIB	Cancer touchant la paroi pelvienne et/ou compressant un ou deux uretères.								
Stade IIIA	Aucune propagation dans la paroi pelvienne, mais propagation au tiers inférieur du vagin.												
Stade IIIB	Cancer touchant la paroi pelvienne et/ou compressant un ou deux uretères.												
Stade IV	Cancer avancé et métastatique*. <table border="1" data-bbox="375 1870 1361 1993"> <tr> <td>Stade IVA</td> <td>Extension aux organes adjacents du bassin (vessie, rectum) et/ou s'étendant au-delà du bassin, c'est-à-dire dans l'abdomen ou l'aîne.</td> </tr> <tr> <td>Stade IVB</td> <td>Cancer avec métastases* distantes, par exemple, dans les poumons ou le foie.</td> </tr> </table>	Stade IVA	Extension aux organes adjacents du bassin (vessie, rectum) et/ou s'étendant au-delà du bassin, c'est-à-dire dans l'abdomen ou l'aîne.	Stade IVB	Cancer avec métastases* distantes, par exemple, dans les poumons ou le foie.								
Stade IVA	Extension aux organes adjacents du bassin (vessie, rectum) et/ou s'étendant au-delà du bassin, c'est-à-dire dans l'abdomen ou l'aîne.												
Stade IVB	Cancer avec métastases* distantes, par exemple, dans les poumons ou le foie.												

ANNEXE 13

Stades de classification du cancer du col utérin selon la FIGO



ANNEXE 14

Fiche de l'AC primaire monoclonal anti-HPV (clone K1H8)

Tel: +33 (0)1 76 63 32 65
E-Mail: info@anticorps-enligne.fr

Fax: +33 (0)1 74 18 08 22
www.anticorps-enligne.fr

anticorps
-enligne.fr

Human Papilloma Virus (HPV) anticorps

Antigène:	Human Papilloma Virus (HPV)
Reactivité:	Human Papillomavirus (HPV)
Hôte:	Souris
Clonalité:	Monoclonal
Application:	Immunohistochemistry (Paraffin-embedded Sections) (IHC (p))
N° du produit:	ABIN385066
Quantité:	0,5 mL
Prix:	923,65 € (Plus frais de livraison 40,00 € et TVA)
Disponibilité:	Envoi sous 11 à 14 jours ouvrables (Destination: France)

Détail du produit

Immunogène:	Alkaline disrupted HPV type 1.
Clone:	K1H8
Isotype:	IgG1, kappa
Spécificité:	Nonconfirmational internal linear epitope of major capsid protein. Known to react with Human Papilloma Virus type 6, 11, 16, 18, 31, 33, 42, 51, 52, 56 and 58.

Détail du antigène

Autre désignation:	HPV / Human Papilloma Virus
Sujet:	Standard Gene Symbol: HPV, Synonyms: HPV

Applications

Indications d'application:	IHC-P (1:20),
Restrictions:	For Research Use only

Stockage



Format:	Liquid
Buffer:	0.09 % sodium azide. Tissue Culture Supernatant
Agent conservateur:	Sodium azide
Précaution d'utilisation:	This product contains sodium azide: a POISONOUS AND HAZARDOUS SUBSTANCE which should be handled by trained staff only.
Stock:	4 °C
Stockage commentaire:	Stable for 24 months when stored at 2-8°C.
Date de péremption:	24 months

ANNEXE 15

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

Un kit de test hc2 High-Risk HPV DNA Test (REF 5197-1330) contient 96 tests.
Le nombre de résultats patients variera suivant le nombre de séries faites par kit.

- 1 série = 88 résultats patients
- 2 séries = 80 résultats patients
- 3 séries = 72 résultats patients
- 4 séries = 64 résultats patients

- 1 x 0,35 ml **Indicateur coloré** **INDIC**
Contient 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 50 ml **Réactif de dénaturation** **REAG DENAT**  C
Solution diluée d'hydroxyde de sodium (NaOH).
- 1 x 5,0 ml **Diluant de sonde** **DIL PROBE**
Solution tamponnée avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 200 µl **Sonde HPV à haut risque** **PROBE HPV HIGH-RISK**
Sonde ARN des HPV de types 16 / 18 / 31 / 33 / 35 / 39 / 45 / 51 / 52 / 56 / 58 / 59 / 68, en solution tamponnée (bouchon rouge).
- 1 x 1,0 ml **Contrôle de qualité HPV à bas risque** **QC HPV LOW-RISK**
5 pg/ml (500 000 copies/ml) d'ADN d'HPV 6 cloné et d'ADN porteur, en STM avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 1,0 ml **Contrôle de qualité HPV à haut risque** **QC HPV HIGH-RISK**
5 pg/ml (500 000 copies/ml) d'ADN d'HPV 16 cloné et d'ADN porteur, en STM avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 2,0 ml **Calibrateur négatif** **CAL -**
ADN porteur en milieu de transport des échantillons (STM) avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 1,0 ml **Calibrateur HPV à haut risque** **CAL HPV HIGH-RISK**
1 pg/ml d'ADN d'HPV 16 cloné et d'ADN porteur en STM avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 1 **Microplaque de capture** **PLATE CAPTURE**
Revêtue d'anticorps anti-hybrides ARN : ADN.
- 1 x 12 ml **Réactif de détection 1** **REAG DET 1**
Anticorps anti-hybrides ARN : ADN conjugués à de la phosphatase alcaline en solution tamponnée avec 0,05 % p/v d'azide de sodium.
- 1 x 12 ml **Réactif de détection 2** **REAG DET 2**
CDP-Star[®] avec Emerald II (substrat chimiluminescent).
- 1 x 100 ml **Tampon de lavage concentré** **BUF WASH X 30**  T
Contient 1,5 % p/v d'azide de sodium.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Matériel et accessoires de diagnostic *in vitro* de la technologie Hybrid Capture^A

<p>Luminomètre de microplaque 2000 de Digene (DML 2000™) Appareil et système PC, câble d'imprimante, imprimante, <i>Manuel d'utilisation du luminomètre DML 2000™ et du logiciel Version 2 et Guide interactif de l'opérateur du logiciel DHCS V.2</i> (la version 4.01 ou une version plus récente des protocoles de test DML 2000 pour le HPV est nécessaire) Hybrid Capture System Rotary Shaker I (Agitateur rotatif I, technologie Hybrid Capture) Hybrid Capture System Microplate Heater I (Incubateur pour Microplaques I, technologie Hybrid Capture) Hybrid Capture System Automated Plate Washer I (Laveur Automatique de Microplaques I, technologie Hybrid Capture) Hybrid Capture System Multi-specimen Tube (MST) Vortexer I ou 2 (Agitateur pour tubes multi-échantillons MST Vortexer I ou 2, technologie Hybrid Capture) (en option) Portoir de conversion et couvercle pour portoir (en option) Portoir pour échantillons Digene et couvercle pour portoir (en option) Pipette EXPAND-4™ et support (en option)^C Dispositifs de prélèvement cervical Hybrid Capture Cervical Sampler ou DNAPap Cervical Sampler^D</p> <p>Distributeur de film étanche pour tube et cutter (en option, utilisé avec le MST Vortexer I ou 2)</p>	<p>Système Rapid Capture® (en option, pour procéder à l'analyse d'un grand nombre d'échantillons)^E Appareil de lavage Microplaques d'hybridation Couvercles pour microplaques Barrettes pour microplaques vides (disponibles auprès de Costar, modèle n°2581) (à utiliser en option avec le Laveur Automatique de Microplaques I) Embouts pour pipette extra-longue pour le prélèvement des échantillons Tubes de prélèvement d'échantillons Portoir pour tubes de prélèvement d'échantillons Bouchons à vis pour tubes de prélèvement d'échantillons Réservoirs à réactif à usage unique Film étanche pour tubes DuraSeal® Microtubes d'hybridation Portoir pour microtubes Films étanches pour plaque</p>
--	--

Matériel et accessoires de laboratoire d'usage courant

Bain-marie à 65 ± 2 °C, assez grand pour recevoir un portoir de conversion (36 x 21 x 9 cm) ou des portoirs pour échantillons
Microcentrifugeuse (en option, pour centrifuger les flacons de sonde afin d'obtenir un volume de sonde maximal)
Agitateur Vortex avec attaches de puits
Micropipette monocanal à volumes variables de 20 à 200 µl et de 200 à 1000 µl
Pipette à répétition à déplacement direct de type Eppendorf Repeater® ou pipette équivalente
Pipette à 8 canaux à volumes variables de 25 à 200 µl
Minuteur
Solution d'hypochlorite de sodium, 5 % v/v (ou eau de javel à usage domestique)
Parafilm® ou film étanche équivalent
Embouts à usage unique pour pipette avec filtre aérosol pour micropipette monocanal (de 20 à 200 µl et de 200 à 1000 µl)
Embouts à usage unique pour pipette Eppendorf Repeater® (25 et 500 µl)
Embouts à usage unique pour pipette à 8 canaux (25 à 200 µl)
Lingettes Kimtowels® ou papier absorbant non-pelucheux équivalent
Revêtement de paille à usage unique
Gants non poudrés
Tubes en polypropylène à fond rond et bouchon pressoir de 5 ml et/ou de 15 ml (pour la dilution de sonde)
Tubes à microcentrifuger de 2,0 ml en polypropylène avec bouchon

Matériel et accessoires supplémentaires pour le traitement des échantillons en solution PreservCyt

Centrifugeuse équipée d'un rotor libre capable d'atteindre 2900 ± 150 x g et de recevoir des tubes à centrifuger coniques en polypropylène de 10 ml ou 15 ml
Pipettes sérologiques ou pipettes de transfert de 5 ml
Kit de conversion des échantillons hc2^A
Embouts à usage unique pour pipette Eppendorf Repeater® (50 et 100 µl)

Pour la procédure de vortexage manuel :

Tubes de conversion des échantillons hc2 (hc2 Sample Conversion Tubes) (coniques, 15 ml)^F, tubes coniques de 10 ml Sarstedt avec bouchons ou tubes à centrifuger de 15 ml en polypropylène à fond conique de marque VWR ou Corning® avec bouchons
Portoir pour tubes coniques de 10 ml ou de 15 ml

Pour la procédure utilisant le MST Vortexer 2 :

Tubes de conversion des échantillons hc2 (coniques, 15 ml)^F
Agitateur pour tubes multi-échantillons MST Vortexer 2
Portoir de conversion et son couvercle (spécifique pour les tubes coniques de 15 ml)
Distributeur de film étanche pour tube et cutter
Film étanche pour tubes DuraSeal® (utilisé avec le MST Vortexer 2)

Matériel et accessoires supplémentaires pour le traitement des échantillons en solution de conservation Surepath

Centrifugeuse équipée d'un rotor libre capable d'atteindre 800 ± 15 x g et pouvant recevoir des tubes à centrifuger coniques en polypropylène de 15 ml
Tubes de conversion des échantillons hc2 (15 ml, coniques)^F
Pipettes de transfert avec embout standard de 7 ml ou pipette équivalente
Milieu de transport pour échantillons QIAGEN
Embouts à usage unique pour pipette de type Eppendorf Repeater® (100 µl)

^A Seul le matériel et les accessoires validés pour les tests hc2 High-Risk HPV DNA Test sont disponibles auprès de QIAGEN.

^B Utilisation également nécessaire lors de l'application RCS semi-automatique.

^C Accessoire sur commande. D'autres pipettes multicanaux pouvant être agrandies sur commande peuvent être utilisées, à condition qu'un espace de 3,2 cm puisse être aménagé entre les embouts lorsque la pipette est agrandie. Un autre choix consiste à utiliser une pipette monocanal pouvant effectuer un pipetage de 75 µl.

^D La performance du test hc2 High-Risk HPV DNA Test a été établie uniquement avec les kits de prélèvement indiqués.

^E Se reporter au *Manuel d'utilisation du système Rapid Capture* pour obtenir des instructions spécifiques sur l'utilisation de ce système pour analyser un grand nombre d'échantillons avec ce test.

^F Afin d'assurer une bonne performance du test lors de l'utilisation de la procédure avec le MST Vortexer 2, vous devez utiliser les tubes de conversion d'échantillons hc2 (de marque VWR ou Corning®) disponibles auprès de QIAGEN.

ANNEXE 16

Tableau 5 : Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'histopathologie

Age (ans) \ Histopat.	30 - 40	41 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 80	Total
Carcinome épidermoïde	02 03,85 %	07 13,46 %	11 21,15 %	10 19,23 %	03 05,77 %	33 63,46 %
CIN I	01 01,92 %	02 03,85 %	07 13,46 %	03 05,77 %	00 00 %	13 25 %
CINII / CIN III	01 01,92 %	02 03,85 %	01 01,92 %	02 03,85 %	00 00 %	06 11,59 %
Total	04 07,69 %	11 21,15 %	19 36,54 %	15 28,85 %	03 05,77 %	52 100 %

Tableau 6 : Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie

Intensité de marquage	Marquage -	Marquage +	Marquage ++	Marquage +++	Total
Nombre des cas	03	22	04	04	33
Pourcentage (%)	09,09	66,67	12,12	12,12	100

Tableau 7 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie

Intensité de marquage	Marquage -	Marquage +	Marquage ++	Marquage +++	Total
Nombre des cas	03	08	05	03	19
Pourcentage (%)	15,79	42,10	26,32	15,79	100

Tableau 8 : Répartition des cas dysplasies cervicales selon le grade histologique

Grade	CIN I	CIN II	CIN III	Total
Nombre des cas	13	2	4	19
Pourcentage (%)	68,42	10,53	21,05	100

Tableau 9 : Répartition des dysplasies cervicales selon le grade histologique et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV HR

CIN Intensité de marquage	CIN I	CIN II	CIN III	Total
Marquage -	2 10,53 %	0 0 %	1 5,26 %	3 15,79 %
Marquage +	6 31,57 %	0 0 %	2 10,53 %	8 42,10 %
Marquage ++	3 15,79 %	1 5,26 %	1 5,26 %	5 26,32 %
Marquage +++	2 10,53 %	1 5,26 %	0 0 %	3 15,79 %
Total	13 68,42 %	2 10,53 %	4 21,05	19 100 %

Tableau 10 : Répartition des cas en fonction des tranches d'âge

Tranche d'âge (ans)	- 30	31 - 40	41- 50	51- 60	+ 60	Total
Nombre de cas	11	37	41	19	07	115
Pourcentage (%)	9,57	32,17	35,65	16,52	6,09	100

Tableau 11 : Répartition des cas en fonction de la cyto-histopathologie

Cyto-histopathologie	Col sain	Col inflammatoire	Condylome	CIN I	CIN II/ CIN III	Total
Nombre des cas	23	12	09	55	16	115
Pourcentage (%)	20	10,43	7,83	47,83	13,91	100

Tableau 12 : Répartition des cas selon l'âge et de la cyto-histopathologie

Age (ans) Cyto- histopathologie	- 30	30- 40	41- 50	51- 60	+ 60 ans	Total
Col sain	03 02,61 %	09 07,82 %	07 06,09 %	03 02,61 %	01 00,87 %	23 20 %
Col inflammatoire	01 00,87 %	04 03,48 %	05 04,34 %	01 00,87 %	01 00,87 %	12 10,43 %
Condylome	00 00,00 %	03 02,61 %	03 02,61 %	02 01,74 %	01 00,87 %	09 07,83 %
CIN I	08 06,96 %	29 25,22 %	12 10,43 %	06 05,22 %	00 00,00 %	55 47,83 %
CINII/CIN III	00 00,00 %	06 05,22 %	07 06,09 %	03 02,61 %	00 00,00 %	16 13,91 %
Total	12 10,43 %	51 44,35 %	34 29,57 %	15 13,04 %	03 02,61 %	115 100 %

Tableau 13 : Recherche d'HPV HR par HCII et par PCR

	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
Nombre de cas	49	66	115
Pourcentage (%)	42,61	57,39	100

Tableau 14 : Recherche d'HPV HR en fonction des résultats cyto-histopathologiques

HPV HR Cyto-histo	HPV HR positif	HPV HR négatif	Total
Col normal	01 0,87 %	22 19,13 %	23 20 %
Col inflammatoire	00 00 %	12 10,43 %	12 10,43 %
Condylome	00 00 %	09 7,83 %	09 7,83 %
CIN I	36 31,31 %	19 16,52 %	55 47,83 %
CINII/CINIII	12 10,43 %	04 3,48 %	16 13,91 %
Total	49 42,61 %	66 57,39 %	115 100 %

ANNEXE 17



INITIAL ACCEPTANCE LETTER

Dear Meriem MEDLES and Malika BENDAHMANE
medles2m@gmail.com

After having carefully evaluated your article titled "**Cancer Du Col Uterin Au Chu De Sidi-Bel-Abbes (Algerie)**" and taken the referees' advice into consideration, the editors came to the conclusion that your paper is suitable for publication in our Journal. In order to save time, the referees communicated their opinion to us verbally. As part of our evaluation process, we normally ask the opinion of two referees who are experts in the relevant field of research. The paper is also read by the editor. If both of the referees and an editor concur in their view, their decision is final. We consult a third referee if there is a difference of opinion. In order to expedite the proceeding, which is one of the objectives of the journal, we do not require a full report on the paper from the referees. The choice of referees and the fact that we require a consensus view between the referees and an editor ensures, however, that the process is as fair as possible. We will include your article in the forthcoming issues of the journal upon receipt of the publication fee.

We would like to remind you that the publication fee for EJSR is \$250. Please pay this amount in full. PLEASE MENTION THE INVOICE NUMBER: "15417", "Author Names" IN THE PAYMENT DETAILS OF THE TRANSACTION IF YOU ARE MAKING A BANK TRANSFER.

You are required to pay your publication fee so that we can publish your article. Please contact office@frdn.net for payment mode & details in this regard.

We request you to please follow these instructions to avoid any delay in publishing your article:

After paying the fee, proof-read your article for the last time and send the final version of your article in the journal's format to office@frdn.net.

1. And do send the payment proof (scanned copy or the online receipt). Unless you send the payment proof & the final copy of your article in MS-Word format, its publication may be severely delayed.
2. Please be advised that no proofs will be sent to you for correction and **any further changes after submission of final version will not be accepted on your article under any circumstances** (except those required due to mistakes in publishing process)
3. Please retain the same subject line "**Invoice No. 15417, EJSR, Cancer Du Col Uterin Au Chu De Sidi-Bel-Abbes (Algerie)**" for all the future correspondence for this article. All further enquiries should be directed to the editorial office at office@frdn.net.

Thank you very much for choosing us as an outlet for publishing your research.

Yours sincerely,

Adrian Marcus Steinberg, PhD
 Managing Editor

ANNEXE 18

Article original

*Immuno-marquage du papillomavirus
dans le cancer du col utérin*

Les Annales Africaines de Médecine

Volume 8 N° 4

Septembre 2015

Immuno-marquage du papillomavirus dans le cancer du col utérin

Immuno-Labeling of Papillomavirus in the cancer of the cervix

Medles M¹, Bendahmane-Salmi M², Tou A³,
Kandouci A.⁴

Correspondance

Medles M.
E-mail : medles2m@gmail.com
Tel : (+ 213) 07 72 97 13 04

Summary

Background & objective: Human papillomavirus (HPV) is recognized as a major risk factor for cervical cancer worldwide. However, the burden of persistent infection with oncogenic HPV-called high-risk (HR HPV) in this type of cancer remains poorly documented in Africa. The objective of this study was to investigate the HPV by immune-histochemistry in biopsies of patients with cervical cancer. **Methods:** In archived biopsies of squamous carcinomas and cervical dysplasia received between 2002 and 2008, the HPV virus was systematically sought by immuno-labeling method in the Pathology Department of University Hospital Sidi Bel Abbès, Algeria. **Results:** Of the 52 biopsies analyzed, the frequency of HPV HR was 91% and 84% in carcinomas and dysplasias, respectively. Postmenopausal women with mean age of 56 years (range 51-60 years) were most affected (36.5%). The intensity of the immuno-labeling was neither correlated with the histological grade lesions nor with the age of the patient. **Conclusion:** Almost all precancerous and cancerous cervical lesions in this series exhibit HPV infection, suggesting that a combined cytology to HPV HR test could improve the sensitivity of the screening of cervical cancer. Mass vaccination campaigns against HPV should be considered to help eradicate this deadly cancer.

Keywords: cancer, cervix, HPV HR, immuno-labelling, infection

History of article: received on October 9th, 2015; accepted the June 23rd, 2016

¹ Laboratoire de recherche en Environnement et Santé (LRES) UDL de Sidi-Bel-Abbès, Algérie

² Laboratoire de recherche en Environnement et Santé (LRES), UDL de Sidi-Bel-Abbès, Algérie

³ Service d'Anatomo-pathologie, CHU de Sidi- Bel-Abbès, Algérie

⁴ Service de médecine de travail, CHU de Sidi Bel Abbès, Algérie

Résumé

Contexte & objectif : Le papillomavirus humain (HPV) est reconnu comme facteur de risque majeur du cancer cervical dans le monde. Cependant, le fardeau de l'infection persistante à HPV oncogènes dits à haut risque (HPV HR) dans ce type de cancer, reste peu documenté en Afrique. La présente étude avait pour objectif, de rechercher l'HPV par immuno-histochimie dans les biopsies des patientes avec cancer cervical. **Méthodes :** Recherche systématique du virus HPV par la méthode d'immuno-marquage, sur les biopsies archivées des carcinomes épidermoïdes et des dysplasies cervicales entre 2002 et 2008, dans le service d'anatomopathologie de CHU de Sidi Bel Abbès, en Algérie. **Résultats :** Sur 52 biopsies analysées, la fréquence de l'HPV HR a été de 91 et 84%, respectivement dans les carcinomes et les dysplasies. Les femmes ménopausées d'âge moyen de 56 ans (extrêmes 51-60 ans) étaient les plus affectées (36,5%). L'intensité de l'immuno-marquage n'a été corrélée ni avec le grade histologique des lésions ni avec l'âge de la patiente. **Conclusion :** L'infection à HPV a été détectée dans la quasi-totalité des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de cette série. Ceci renforce l'intérêt de la combinaison de l'examen cytologique et d'un test HPV HR dans le dépistage du cancer du col. Des campagnes de vaccination de masse contre l'HPV sont à envisager pour contribuer à éradiquer ce cancer mortel.

Mots clés : cancer, col utérin, HPV HR, immunomarquage, infection.

Historique article: reçu le 9 oct. 2015; Accepté le 23 juin 2016

Introduction

De par sa forte morbi-mortalité, le cancer du col utérin est un véritable problème mondial de santé publique. En effet, il occupe le deuxième rang parmi les cancers les plus communs chez la femme, son incidence à l'échelle mondiale est de 493 000 nouveaux cas et 200 000 décès par an (1). La recherche de l'agent causal a été à la base du succès de la lutte contre la plupart des maladies infectieuses. Les études épidémiologiques sur l'infection à HPV ont établi le rôle de ces virus dans la genèse des néoplasies cervicales intra-épithéliales et du cancer du col.

De plus, la densité de la charge virale en milieu liquide est fortement liée au grade histologique de la lésion. Ces données renforcent la valeur potentielle du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin. Cependant, les travaux démontrant l'implication de l'HPV dans ce cancer demeurent fragmentaires dans les contrées africaines. L'objectif de la présente étude est de déterminer le fardeau de l'HPV dans les tumeurs cervicales et de rechercher la corrélation possible entre l'âge, la charge virale et le grade histologique.

Méthodes

Sur 52 biopsies archivées des carcinomes épidermoïdes et des dysplasies cervicales entre 2002 et 2008 au service d'anatomopathologie du CHU de Sidi Bel Abbès, la recherche de l'HPV à haut risque par immuno-histochimie a été effectuée. La technique de marquage réalisée a été manuelle, basée sur l'utilisation de l'anticorps primaire monoclonal anti-HPV (clone K1H8) spécifique des HPV à Haut risque (type 6, 11, 18, 31, 33, 42, 51, 52, 56 et 58) et les deux anticorps secondaires Biotine et Streptavidine.

Protocole de l'immuno-marquage

A partir des blocs de biopsies paraffinées, des coupes de 2 à 3µm d'épaisseur ont été faites à l'aide d'un microtome selon les étapes ci-après :

- préparation de lames silanisées,
- incubation puis déparaffinage avec de xylènes,
- réhydratation avec de l'alcool absolue,
- dépôts de lames dans une solution de démasquage préchauffée à 98°,
- lavage avec de l'eau distillée,
- dépôts d'une goutte de l'anticorps primaire monoclonal anti HPV (clone : K1H8), puis incubation,
- rinçage avec une solution de lavage,
- dépôt d'une goutte de l'Ac secondaire : Biotine,
- rinçage avec un bain de la solution de lavage,

- dépôt de quelques gouttes de l'eau oxygénée,
- un bain de la solution de lavage,
- dépôt de quelques gouttes de 2^{ème} Ac secondaire : Streptavidine,
- lavage avec un bain de la solution de lavage,
- ajout des gouttes de la solution chromogène.

L'étape finale consistait à la coloration avec de l'hématoxyline de MAYER, puis montage et lecture au microscope optique.

L'intensité du marquage a été estimée en fonction du pourcentage des cellules marquées, en retenant comme positives, les valeurs supérieures à 10% des cellules marquées. Une intensité de marquage entre 40 et 60% a été considérée comme moyennement positive et au-delà de 60%, elle était enregistrée comme fortement positive.

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de fréquences absolues ou relatives. Nous avons recouru essentiellement à l'analyse statistique descriptive (moyenne).

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts

Résultats

Caractéristiques générales de la population d'étude

La figure 1 montre la distribution des patientes selon les tranches d'âge et montre que leur âge moyen était de 56 ans ; la majorité des patientes (88,46 %) étaient âgées entre 41 et 70 ans avec un pic (36,5 %) entre 51 et 60 ans. Toutes les femmes de la population d'étude étaient mariées.

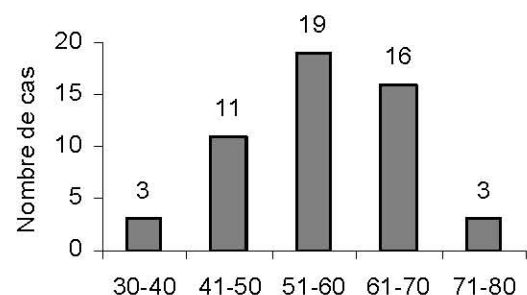


Figure 1 : Distribution des cas en fonction des tranches d'âge

Répartition des cas en fonction de l'âge et de l'examen histopathologique

Des 52 biopsies de col utérin analysées par immuno-marquage des HPV HR, 33 ont été des carcinomes épidermoïdes et 19, des dysplasies cervicales. Onze cas (21,15 %) de carcinomes épidermoïdes et 7 de CIN I (36,84 %) étaient âgés entre 51 et 60 ans. Dix cas (19,23 %) de carcinomes épidermoïdes, 3 (15,79%) de CIN I, 2 (10,53%) de CIN II et CIN III, étaient âgés entre 61 et 70 ans (Figure 2).

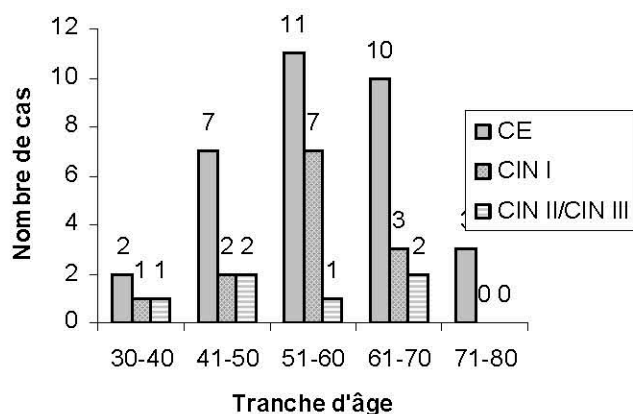


Figure 2 : Distribution des cas en fonction de l'âge et de l'histopathologie

Fréquence des HPV HR dans les carcinomes épidermoïdes

Parmi les 33 cas de carcinomes épidermoïdes, la recherche des HPV HR été positive chez 30 cas (90,91 %) et négative pour 3 d'entre eux (9,09 %) (Figure 3). Les analyses positives l'ont été faiblement pour 22 cas, et fortement pour 4.

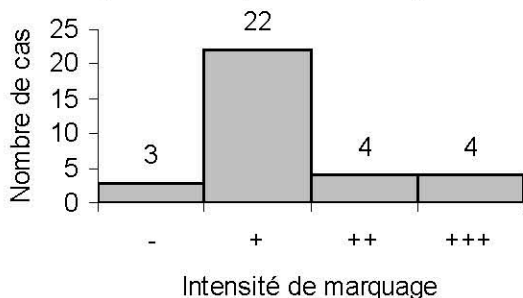


Figure 3 : Répartition des cas de carcinomes épidermoïdes selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie
 - : négative ; + : faiblement positive ; +++ : fortement positive

Fréquence des HPV HR dans les dysplasies

Dans 19 cas de dysplasies cervicales, 16 cas (84,21 %) se sont révélés HPV HR positifs et 3 (15,79 %), négatifs. Les analyses positives l'ont été fortement pour 8 cas, moyennement pour 5, et faiblement pour les 3 restants (Figure 4).

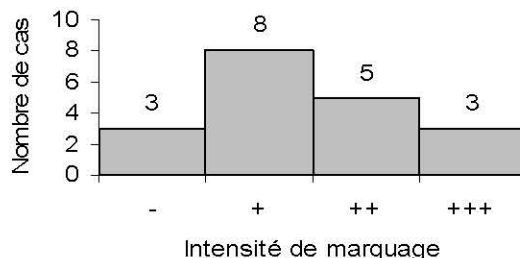


Figure 4 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon l'intensité de marquage des HPV HR par immunohistochimie

Le marquage des HPV HR par immunohistochimie était cytoplasmique formant un halo marron autour des noyaux de cellules carcinomateuses (illustrée dans la planche I).

Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique

Parmi les 19 cas de dysplasies cervicales, 13 étaient des lésions de bas grade (CIN I), et les 6 autres, des lésions de haut grade (Figure 5).

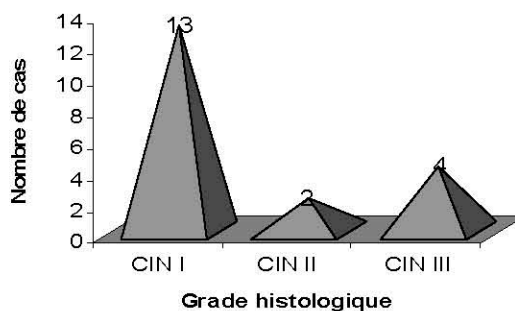


Figure 5 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique

Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade histologique et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV HR

Parmi les 19 cas de dysplasies cervicales, l'HPV HR était négatif chez 2 cas de CIN I et un seul cas de CIN III ; 6 autres cas de CIN I et 2 cas de CIN III ont été HPV HR faiblement positifs, 3 cas de CIN I moyennement positifs et 2 autres cas de CIN I fortement positifs (Figure 6).

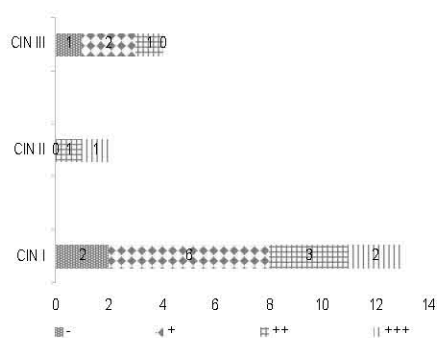


Figure 6 : Répartition des cas de dysplasies cervicales selon le grade et l'intensité de l'immuno-marquage des HPV HR

Discussion

La présente étude a réalisé l'immuno-marquage de 52 biopsies archivées provenant des patientes âgées entre 38 et 80 ans dont l'âge moyen était de 56 ans. La majorité des patientes (88,46 %) étaient âgées entre 41 et 70 ans avec un pic (36,54 %) entre 51 et 60 ans. Sur les 33 cas de carcinomes épidermoïdes et 19 cas de dysplasies cervicales, 11 cas de carcinomes épidermoïdes et 7 cas de CIN I étaient âgés entre 51 et 60 ans. En accord avec les données de la littérature (2), les tranches d'âge ménopausique et post-ménopausique, sont l'âge le plus propice à l'apparition des lésions cancéreuses après une dizaine ou vingtaine d'années de persistance de l'infection virale. La prépondérance de lésions cervicales à la ménopause, pourrait s'expliquer par les modifications hormonales et leur conséquence immunitaire, peut être aussi par l'atrophie et le risque de microtraumatismes accrus favorisant la pénétration des HPV et leur effet sur la carcinogénèse. Ces résultats corroborent d'autres données de registres sur le cancer dans les pays en développement (3) qui montrent qu'environ 90 % des cas confirmés de néoplasie affectent les femmes âgées d'au moins 35 ans, et que l'incidence de ce cancer est très faible pour les femmes de moins de 25 ans. Le cancer du col utérin affecte plus fréquemment les multipares en période d'activité génitale. Le profil épidémiologique rapporté dans les pays en développement est cependant sensiblement différent de celui observé en Europe (4); en

effet, la répartition par âge de l'incidence des cancers du col utérin en France indique une fréquence croissante de cette pathologie à partir de 20 ans. Cette situation relèverait notamment, de la précocité de l'activité sexuelle chez les jeunes femmes et les adolescentes en Europe.

Parmi les 33 cas de carcinomes épidermoïdes, la recherche des HPV HR par immunohistochimie a été positive dans 30 cas (90,91%) ; ce résultat est en phase avec les observations dans l'étude de Walboomers et al. publiée en 1999 (5), qui rapportait déjà une positivité de 99,7% pour les HPV HR dans des carcinomes épidermoïdes du col utérin.

Quant aux 19 cas de dysplasies cervicales dans cette série, la recherche du HPV s'est révélée positive chez 16 d'entre eux, et négative dans 3 cas. Ce constat est en phase avec quelques travaux antérieurs. C'est le cas d'une méta-analyse, qui a retrouvé une positivité dans 84 % des lésions dysplasiques (6) ; de même que dans les travaux de Seigneurin et Morand, qui ont décrit un profil semblable. Ces auteurs ont évoqué un lien de causalité entre l'infection à HPV et les néoplasies intra-épithéliales, en retrouvant de l'ADN viral dans plus de 90% d'échantillons de leur série (7). L'infection à HPV est relativement fréquente dans la population générale, comme rapporté par Winer et al en 2005. Ces auteurs estiment en outre qu'environ sept femmes sur dix ont été exposées aux HPV au moins une fois durant leur vie, et que sans intervention, une femme sur cinq parmi ces dernières pouvait développer un cancer du col (8). L'exposition à ce virus se fait par contact sexuel, souvent lors de premiers rapports sexuels, d'autant qu'ils sont plus précoces. Les femmes jeunes sont alors plus susceptibles de contracter et développer l'infection. Des études américaines sur des étudiantes universitaires et des jeunes femmes ont mis en évidence des prévalences d'HPV particulièrement élevées, de 26 à 39% (9, 10). Les lésions condylomateuses et dysplasiques sont la principale expression clinique de la maladie. Elles peuvent régresser spontanément après de longs mois ou des

années, ou encore persister, et constituer des foyers latents de multiplication virale (11, 12). Ces foyers chroniques peuvent évoluer en dysplasie de haut grade, voire en carcinome du col, comme démontré par Wallin et son équipe dans une enquête prospective (13). Toutes les patientes de la présente série étaient mariées, comme dans les travaux antérieurs de Winer *et al* (8) qui ont démontré que le cancer cervical était extrêmement rare chez les sujets vierges, contrairement au cancer de l'utérus et celui du sein. D'autres études ont suggéré une association positive entre l'activité sexuelle et le développement des CIN; ainsi qu'une corrélation directe avec le risque de l'infection cervicale à HPV chez les femmes jeunes (14, 15).

Le marquage des HPVHR par immunohistochimie sur les biopsies, a été cytoplasmique formant un halo marron autour des noyaux de cellules carcinomateuses (planche I). La coupe (D) est une coupe histologique d'une biopsie de lésion de haut grade avec un immunomarquage fortement positif des cellules basales. Ce phénomène relèverait de la grande affinité que présentent les HPV pour les cellules basales qui en constituent le premier site d'infection à travers la zone de jonction. Culp *et al.* ont démontré que la laminine 5, une protéine de la lame basale et ligand des intégrines, serait capable de piéger des virions HPV 11 ou des VLP HPV 11 et faciliterait leur interaction avec des cellules épithéliales (16).

Concernant l'immunomarquage, l'étude a retrouvé 33 cas de carcinomes épidermoïdes, dont 22 étaient faiblement positifs et 4 fortement positifs. Parmi les 16 cas de dysplasies cervicales, 8 ont été fortement positifs, 5 moyennement positifs, et 3 faiblement positifs. Deux cas de dysplasies cervicales de CIN I et un cas de CIN III ont été HPV HR négatifs, 6 cas de CIN I et 2 de CIN III ont été HPV HR faiblement positifs, 3 cas de CIN I ont été HPV HR moyennement positifs et 2 cas de CIN I ont été fortement positifs. Ces résultats traduisent l'absence de corrélation entre la densité de

l'immunomarquage et la charge virale avec le grade histologique de la lésion. Toutefois, il aurait été plus préférable de calculer la charge virale dans un milieu liquide dans le cadre de la surveillance; car une charge virale élevée est un indicateur de CIN sous-jacente. A cet égard, Cuzick (2002) (17), a montré qu'une charge du HPV 16 élevée dans des frottis de dysplasies légères a une valeur prédictive de 100 % dans la détection d'une lésion de haut grade sous-jacente. Sun *et al.* ont également rapporté que la sévérité et la taille de la lésion étaient fortement corrélées à la charge virale(18).

La dysplasie cervicale liée à la persistance de l'infection à HPV est tributaire de quatre principaux facteurs de risque (19). Il s'agit notamment du type du virus (particulièrement les HPV 16-18), du nombre des copies d'ADN viral (charge virale), de la réponse immunologique de l'hôte aux antigènes viraux, et enfin des facteurs environnementaux (le tabac et les hormones).

Si le papillomavirus à haut risque est l'agent étiologique déterminant dans plus de 90 % des cas de cancer du col, il n'en est pas le facteur exclusif. D'autres circonstances sont incriminées telles que : la précocité de l'activité sexuelle, la multiplicité des partenaires sexuels, la contraception orale, la précarité, le tabagisme et d'autres agents infectieux (l'herpès simplex humain (HSV2), le cytomegalovirus (CMV), l'Epstein Barr Virus (EBV) et les Chlamydiae).

Le cancer du col est un cancer évitable, d'autant plus que les lésions dysplasiques peuvent mettre jusqu'à 10 à 15 ans pour se développer et atteindre le stade d'invasion, le dépistage précoce est donc possible. Celui-ci est encore aléatoire dans notre milieu, lors de consultations routinières, faute de programme organisé. Le dépistage repose quasi-exclusivement sur l'analyse cytologique du frottis cervico-vaginal, dont la sensibilité est faible, ne dépassant pas 60% (20); une enquête publiée en 2002 révélait un nombre inacceptable de cancers invasifs chez des femmes pourtant régulièrement contrôlées par frottis (21). La recherche du HPV améliore sensiblement la détection du cancer du col;

l'absence du virus sur frottis exclut presque toujours et en toute sécurité la présence d'une lésion précancéreuse (22) ; ce qui ne peut être affirmé par la réalisation du seul frottis conventionnel. Des moyens plus sensibles notamment de biologie moléculaire (HCII et PCR) dont la sensibilité est supérieure à 95%, permettent, à côté de l'immunohistochimie, la confirmation de lésions cancéreuses.

Limites et forces de l'étude

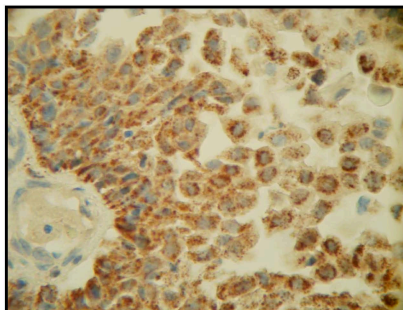
Les résultats présentés méritent néanmoins d'être interprétés avec caution. En effet, le caractère monocentrique et retrospectif de l'étude, ainsi que la faible taille de l'échantillon, sont susceptibles d'affecter la puissance des observations. Il en est de même du manque d'un protocole antérieur validé qui pourrait avoir occasionné la perte de certaines informations utiles. Toutefois, la force de ces observations réside dans leur caractère princeps dans notre contexte de pays à faible ressources. L'enquête

basée sur des techniques validées et fiables de recherche du HPV sur des pièces biopsiques archivées, montre la possibilité et la pertinence de l'approche en oncologie gynécologique dans nos milieux. Des stratégies de prévention et de dépistage peuvent être envisagées, fondées sur des évidences.

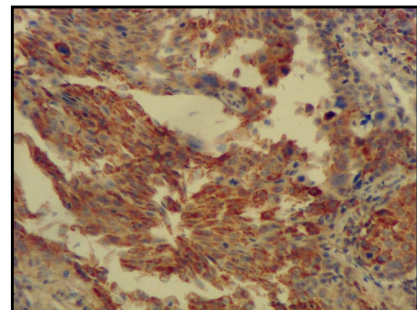
Conclusion

L'infection à HPV, sans corrélation évidente avec les caractéristiques sociodémographiques des sujets, la charge virale et le grade histologique, a été détectée dans la quasi-totalité des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de cette série. Ceci renforce l'intérêt de la combinaison de l'examen cytologique et d'un test HPV HR dans le dépistage du cancer du col. Des campagnes de vaccination de masse contre l'HPV sont à envisager en vue de réduire la charge de morbidité imputable à ce cancer.

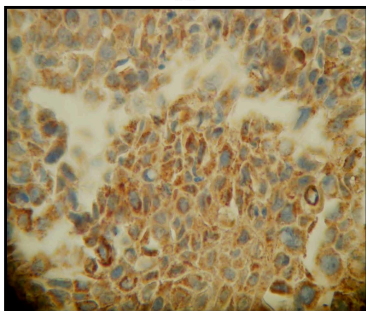
Planche I : Immuno-marquage des HPV HR fortement positif



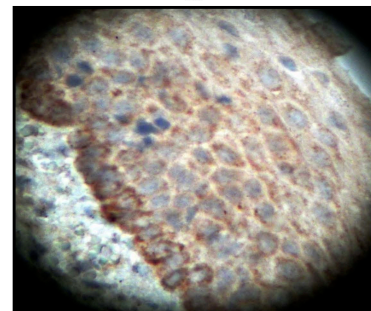
A



B



C



D

(D) Coupe histologique d'une biopsie de lésion de haut grade avec immunomarquage fortement positif des cellules basales (GX1000)

Références

1. Ferlay L, Bray F, Pisani P and Parkin DM. GLOBOCAN 2002: Cancer incidence, mortality and prevalence world-wide IARC Cancer Base n°5, Version 2.0. Lyon IARC Press, 2004, 481-88.
2. Remontet L, Esteve J, Bouvier AM, Grosclaude P, Launoy G, Menegoz F *et al.* Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Epidemiol Santé Publique* 2003; **51**: 3-30.
3. Eduardo C, Lazcano-Ponce, S Moss, Alonso dR, Salmeron CJ, Hernandez AM *et al.* Cervical Cancer Screening in Developing Countries: Why Is it Ineffective? The Case of Mexico, *Archives of Medical Research* 1999; **30**: 240-50.
4. Exbrayat C, Col de l'utérus. In : Remontet L, Buemi A, Velten M, Jouglu E, Esteve J, eds. Evolution de l'incidence et de la mortalité par cancer en France de 1978 à 2000. Paris : Francim, HCL, Inserm, In VS 2003: 107-12.
5. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; **189**: 12-9.
6. Smith JS, Lindsay L, Keys J, Keys J, Franceschi S, Winer R *et al.* HPV type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical neoplasia: A meta-analysis update. *Int J Cancer* 2007; **121**: 621-32.
7. Seigneurin J. M. et Morand P. Virologie moléculaire médicale. Edition : Lavoisier, 1997, 309- 312.
8. Winer RL, Kiviat NB, Hughes JP, Adam DE, Lee SK, Kuypers JM *et al.* Development and duration of human papillomavirus lesions, after initial infection. *J Infect Dis* 2005; **191**: 731-8.
9. Herrero R, Castle PE, Schiffman, M Bratti MC, Hildesheim A, Morales J *et al.* Population based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 464-74.
10. Frenczy A. Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata acuminata. *AJ of Obstetrics and Gynecology* 1995; **172**: 1331-39.
11. Kotloff KL, Wasserman SS, Russ K, Shapiro S, Daniel R, Brown W *et al.* Detection of genital human papillomavirus and associated cytological abnormalities among college women. *Sexually transmuted diseases* 1998; **25**: 243-50.
12. Peyton CL, Gravitt PE, Hunt WC, Hundley RS, Zhao M, Apple RJ *et al.* Determinants of human papillomavirus detection in a US population. *The Journal of infectious diseases* 2001; **183**: 1554-64.
13. Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G *et al.* Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. *N Engl J Med* 1999; **341**: 1633-38.
14. Rozendaal L, Westerga J, van der Linden JC, Walboomers J, Voorhorst F, Risse E *et al.* PCR based high risk HPV testing is superior to neural network based screening for predicting incident CIN 3 in women with normal cytology and borderline changes. *J ClinPathol* 2000; **53**: 606-11.
15. Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P *et al.* Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001; **357**: 1831-6.
16. Culp TD, Budgeon LR, MarinKovich MP, Meneguzzi G and Christensen ND, Keratinocyte-secreted laminin 5 can function as a transient receptor for human papillomaviruses by binding virions and transferring them to adjacent cells. *J Virol* 2006; **80**: 8940-50.
17. Cuzick J, Role of HPV testing in clinical practice. *Virus Res* 2002; **89**: 263-9.
18. Sun CA, Liu JF, Wu DM, Nieh S, Yu CP and Chu TY, Viral load of high-risk Human Papillomavirus in cervical squamous intraepithelial lesions. *Int J Gynaecol Obstet* 2002; **76**: 41-7.
19. Monsonogo J, Traité des infections et pathologies génitales à papillomavirus. Springer, Paris, 2007, p 4- 35, pp. 435-50.
20. Fahey MT, Irwig L and Macaskill P, meta-analysis of pap test accuracy, *Am J Epidemiol.* 1995; **141**: 680-89.
21. Monsonogo J. Du dépistage à la prise en charge des atypies cytologiques mineures ou mal définies du col : progrès récents. *Revue française des laboratoires* 2002 ; **346** : 41-48.
22. Walboomers J, Jacobs M, Manos M, Bosch F, Kummer J, Shah K *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 2006; **189**: 12-9.