

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Constantine1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Animale

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie Animale

Spécialité : *Génétique moléculaire*

Intitulé :

Implication du papillomavirus humain dans le cancer du col de l'utérus

Présenté et soutenu par : Benkhrourou Okba Rouili Haroun

Jury d'évaluation **Le : 25/06/2014**

Président de jury: M^{me} Benhizia.H Maitre de Conférence Classe B U.C.1

Encadreur: Mr Rezgoune.ML Maitre Assistant Classe A U.C.1

Co-encadreur: M^{lle} Khacha.H Doctorante U.C.1

Examinatrice: M^{me} Bechkri.S Maitre Assistante Classe A U.C.1

Année universitaire

2013-2014

Remerciement

Nous souhaitons adresser, à travers ces quelques lignes, notre grande reconnaissance envers l'université Constantine 1, la faculté des sciences de la nature, particulièrement, le département de biologie animale.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre encadreur

***Mr REZGOUNE ML** (Maitre Assistant Classe A) pour son aide, ses précieux conseils, et sa compréhension.*

*Nous souhaitons aussi d'adresser nos remerciements à Doctorante **Khacha Halima**, Co-encadreur de ce Mémoire. Pour ses conseils judicieux et ses encouragements permanents et son soutien moral. Vous n'avez pas hésité à nous faire part de votre expérience pour mener à bien ce travail.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements à notre Professeur **M^{me} SATA.D**, nous voudrions également lui témoigner notre gratitude pour sa patience et son soutien qui nous a été précieux afin de mener notre travail à bon port, Merci.*

*Nos vifs remerciements vont aux membres du jury : **M^{me} BENHIZIA. H** (Maitre de conférences Classe B), **M^{me} BECHKRI. S** (Maitre Assistante Classe A) d'avoir sacrifié leur temps pour juger ce travail.*

*Le travail présenté dans ce manuscrit a été réalisé au laboratoire d'anatomie pathologique de l'EPH, Cité ElBir, Constantine. Nous remercions **Professeur Nacri**, pour nous avoir accueillis dans ce laboratoire, pour sa présence et ses conseils scientifiques.*

Nos sincères remerciements à nos chers parents pour leur amour, leurs encouragements incessants et leur soutien moral aux moments difficiles, merci à nos frères, à nos sœurs et à toute la famille.

Sans oublier nos chères amies de la promotion, pour leurs sympathies et leur soutien tout au long de ces années d'études.

Nous remercions également toute personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous

ملخص

سلالات فيروس الورم الحليمي البشري عالية الخطورة هي المسببة لسرطان عنق الرحم بنسبة 100 ٪. إلتهابات عنق الرحم عادة ما تكون عابرة و بدون مخاطر. و مع ذلك فإن الإلتهابات التي تدوم لأوقات طويلة قد ينتج عنها أورام ما قبل تكون السرطان و يعد سرطان عنق الرحم ثاني اكثر انواع السرطانات شيوعا في العالم لدى النساء و الأول من حيث نسبة الوفيات. أما العلاج من هذا السرطان فهو لايزال يمر بمراحل كثيرة مما يجعل علاج هذا السرطان صعب المنال للكثيرين بسبب التكلفة العالية .

يوجد هناك طريقة لفحص سرطان عنق الرحم و هي طريقة بسيطة و غير مؤلمة و متوفرة في أغلب المستشفيات و هي طريقة مسحة عنق الرحم و هي طريقة ذات فعالية كبيرة و مثبتة و مستعملة من طرف غالبية الأطباء. و هدفنا من هذا العمل هو أخذ عينة من فئة معينة و هي مرضى مستشفى البير و اخضاعهم لطريقة مسحة عنق الرحم و إجراء التحاليل لهذه العينة من النساء.

ركزت دراستنا على عينات عنق الرحم التي تم إرسالها لمخبر التشريح بمستشفى البير و ذلك لغرض دراسة نسيجية للعينات. و قد قمنا بعمل بيانات بسيطة مع الإشارة للحالة الاجتماعية لكل المرضى .

و لحد الآن لم يتم تطبيق أي برنامج للفحص على المستوى الوطني .

و تبقى فيروسات الورم الحليمي البشري هي المسبب الأول لسرطان عنق الرحم و المسببة لـ 90 ٪ من حالات الإصابة بهذا السرطان

كلمات مفتاحية فيروسات الورم الحليمي البشري،مسحة عنق الرحم،سرطان عنق الرحم.

Abstract

We report in this work a prospective study to evaluate the interest of the Cervico-Utérin smear test in the screening of the cancer of the uterine collar through experiment of the laboratory of pathological anatomy of The City El-Bir Hospital.

There is a way of cervical cancer screening, simple, painless and free hospital whose effectiveness has been proven; it is the Pap smear (FCU) can be achieved by all practitioners' doctors.

Our objectives were to learn in a consultant to the population of the City EPH El-Bir, Constantine. To make Pap smears. To conduct an epidemiological analysis of the series of patients recruited.

Our study focused on sampling the cervix which was sent to the pathology department of the EPH for histological examination.

We made a simple data entry. Marital status was indicated in all patients.

The cancer of the uterine collar is pathology of infectious origin. It is with the second rank of female cancers in the world, mainly in the countries in the process of development, in terms of incidence and mortality. It is a cancer which can become potentially a rare disease, because it is an ideal candidate for screening by his slow evolution and the existence of many curable precancerous lesions.

Keywords: human papillomaviruses, FCU, cervical cancer.

Résumé

Les infections à papillomavirus humains à haut-risque (HPV-HR) sont responsables de 100% des cancers cervico-utérin. Les infections du col utérin sont généralement transitoires et bénignes. Cependant, en cas d'infection persistante, elles peuvent s'accompagner d'une progression vers des lésions (pré)cancéreuses du col utérin. En termes d'incidence, le cancer du col utérin reste au deuxième rang des cancers féminins mondialement et au premier rang en termes de mortalité. Le diagnostic se fait encore le plus souvent à des stades évolués ce qui rend la prise en charge thérapeutique difficile et de coût élevé.

Il existe un moyen de dépistage de ce cancer, simple, non douloureux et gratuit en milieu hospitalier dont l'efficacité a été prouvée, il s'agit du frottis cervico-utérin (FCU) qui peut être réalisé par tous les médecins.

Nos objectifs étaient d'apprendre dans une population consultante à l'EPH de la Cité El-Bir, Constantine. À réaliser des Frottis Cervico-Utérin. D'effectuer une analyse épidémiologique sur la série de patientes recrutées.

Notre étude a porté sur les prélèvements de col de l'utérus qui ont été envoyés au service d'anatomie pathologique de l'EPH, Cité El-Bir pour examen histologique.

Nous avons fait une saisie simple des données. Le statut matrimonial était précisé chez toutes les patientes.

Le papillomavirus humain (HPV) reste l'agent dont la responsabilité est la plus parfaitement démontrée dans la survenue du cancer du col utérin, il serait responsable de plus de 90% des cas du cancer du col utérin.

Mots Clés : papillomavirus humain, FCU, cancer du col utérin.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie I: Etudes bibliographique

I. Les papillomavirus humain (HPV)

1. Histoire naturelle des infections à HPV	2
2. Description et caractéristiques	2
3. La classification des papillomavirus	3
A .Basée sur la séquence génomique..	4
B. Basée sur le tropisme.....	6
C.Basée sur le potentiel oncogène.....	6
4. Le Génome viral	7
A. La région E.....	8
B. La région L.....	9
C. La région LCR.....	9
5. Cycle viral des papillomavirus	10
A. Infection primaire de l'épithélium.....	10
B. Phase de maintenance.....	10
C. Phase de prolifération.....	12
D. Phase d'amplification	13
E. Phase d'assemblage.....	13
6. Mécanisme cellulaire de transformation maligne	14

II. Le cancer du col de l'utérus

1. L'anatomie du col de l'utérus	15
---	-----------

2. Définition du cancer du col de l'utérus.....	16
3. Modes de transmissions des papillomavirus.....	17
A. Transmission sexuelle des HPV.....	17
B. Transmission non sexuelle de HPV.....	18
C. Transmission mère-enfant.....	18
4. Les facteurs de risque.....	18

Partie II : Matériels et Méthodes

I. Patientes	20
II. Frottis cervico-utérin	
A. Prélèvements.....	20
B. La coloration de papanicolaou.....	21
C. Interprétation des frottis cervico-utérin.....	23

Partie III : Résultats et Discussions

I. Caractéristiques générales de la population.....	24
II. Les résultats frottis cervicaux utérin.....	25

Conclusion.....27

Les perspectives.....28

Références bibliographiques.....29

Annexes:

A. Annexe 1

- Composition des colorants

B. Annexe 2

- Définitions

C. Annexe 3

- Le questionnaire utilisé pour le dépistage du cancer du col de l'utérus

La liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

ARN : Acide Ribonucléique .

CIN: Cervical Intraepithelial Neoplasia.

EA50 : Éosine Azure 50

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay .

FCU : Frottis Cervico-Utérin .

HPV BR : Papillomavirus Bas Risque.

HPV HR : Papillomavirus Haut Risque.

HPV : Human Papillomavirus.

IST : Infection Sexuellement Transmissible.

LCR: Long Control Region.

OG6 : Orange Gelb 6 .

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humain

VLP: Virus Like Particules.

Liste des Figures

<u>Figure 1</u> : La structure des HPV.....	3
<u>Figure 2</u> : Organisation du génome d'HPV de type 16.....	8
<u>Figure 3</u> : Cycle viral d'HPV	10
<u>Figure 4</u> : Modèle du mécanisme infectieux utilisé par l'HPV.....	11
<u>Figure 5</u> : L'anatomie du col de l'utérus.....	16
<u>Planche 1</u> : La méthode de Papanicolaou.....	22
<u>Photographie 1</u> : Résultat d'un frottis très inflammatoire.....	25
<u>Photographie 2</u> : Résultat d'un frottis montre la présence des cellules atypiques.....	25

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification des HPV.....5

Tableau 2 : Distribution des types d'HPV selon leurs tropisme.....6

Tableau 3 : Classification des HPV ano-génitaux selon leur potentiel oncogène....7

Introduction

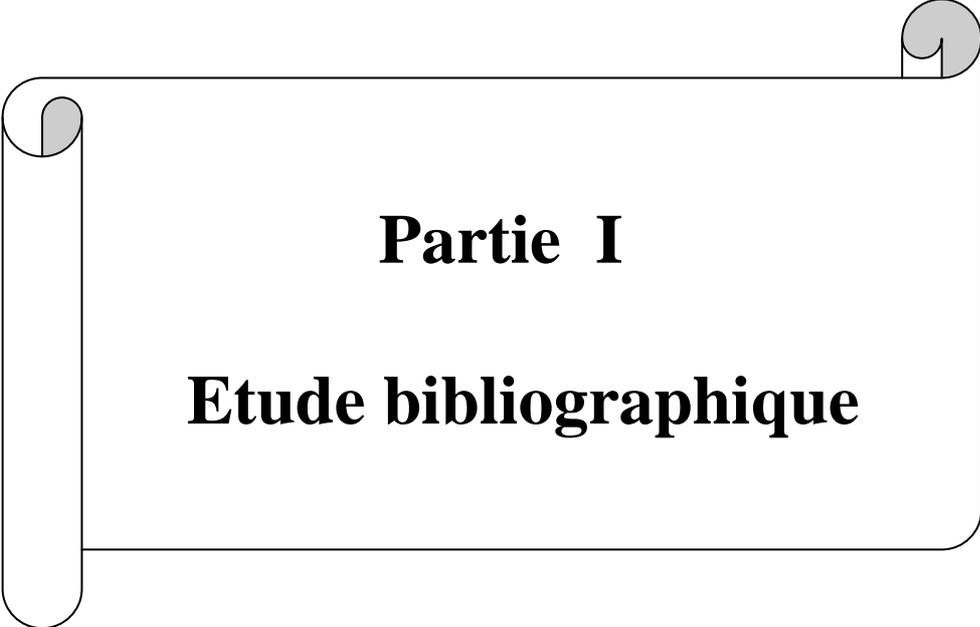
Le papillomavirus humain (HPV) est responsable de pathologies variées, le plus souvent bénignes (verrues cutanées, condylomes ano-génitaux...) mais constitue également la principale cause des cancers du col de l'utérus. Ces cancers, sont détectés souvent chez des femmes encore jeunes et constituent donc une préoccupation actuelle de santé publique.

Le cancer du col de l'utérus est toujours précédé de lésions précancéreuses qui se développent lentement, justifiant ainsi la prévention par le dépistage.

Le papillomavirus humain (HPV) reste l'agent dont la responsabilité est la plus parfaitement démontrée dans la survenue du cancer du col utérin, il serait responsable de plus de 90% des cas du cancer du col utérin.

Actuellement, le test de dépistage de référence est le frottis cervico-utérin pratiqué tous les trois ans à l'initiative de la patiente ou de son médecin. Même s'il a permis de diminuer fortement les taux de mortalité dus au cancer du col, ce moyen de dépistage ne reste pas assez fiable avec de nombreuses lésions non détectées et pas assez suivi avec de nombreuses patientes mal ou non dépistées. L'organisation du dépistage et sa généralisation à toutes les femmes de tous âges pourraient améliorer la prévention du cancer cervico-utérin et rendre la prise en charge thérapeutique précoce plus efficace : le cancer du col de l'utérus est décrit comme un cancer évitable.

Les objectifs de notre travail consistent à apprendre à réaliser les frottis cervico-utérin avec la détermination des différents types des lésions observées. Et d'évaluer si possible la prévalence des lésions précancéreuses et leurs types.



Partie I

Etude bibliographique

I. Les papillomavirus humain (HPV)

1. Histoire naturelle des infections à HPV

Les papillomavirus (du latin *papilla*, diminutif de *papula* signifiant bouton, et du suffixe grec *ome*, désignant le caractère tumoral) sont des virus très anciens et extrêmement stables mais leur caractérisation fut relativement longue, car il n'existe pas de système cellulaire permettant leur propagation *in vitro*. C'est le développement de la biologie moléculaire dans les années 70, qui a permis d'établir leur remarquable pluralité, leur spécificité tissulaire et leur pathogénicité dépendante du génotype (Lopes, 2005).

Les papillomavirus humains sont responsables de tumeurs bénignes et malignes chez l'homme et chez l'animal, et ont été à l'origine du premier modèle de tumeur liée à un virus à ADN découvert en 1920 par SHOPE chez le lapin (Sagna, 2012).

Durant les années 1960 à 1970, les données épidémiologiques montrent que la maladie est transmise par contact sexuel et inspirent la recherche pour identifier un agent microbien comme facteur étiologique des néoplasies cervicales (Djigma, 2011).

Dans les années 1970, un chercheur allemand est persuadé qu'un virus, le virus du papillome humain ou HPV, peut être à l'origine du cancer du col de l'utérus (Hausen, 2009).

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

2. Description et caractéristiques

Les papillomavirus sont responsables chez l'homme, d'une grande variété de lésions cutanées et des muqueuses rassemblées sous le nom de papillomes viraux (Ladame, 2009). En plus de leur spécificité d'hôte, les papillomavirus présentent une spécificité tissulaire. Ils sont épithéliotropes stricts et infectent les épithéliums muqueux et cutanés. Plus de 40 espèces sont connues pour être responsable d'infection des muqueuses génitales et anales.

Certains papillomavirus humains dits non-oncogènes induisent des lésions bénignes telles que des verrues, des papillomes ou des condylomes, tandis que les types dits « oncogènes » sont responsables du cancer du col de l'utérus (Fremont-Smith *et al.*, 2004).

Les virus HPV sont retrouvés dans 99,7% des cancers du col de l'utérus (Harper *et al.*, 2004). Les papillomavirus humain ou HPV (Human Papilloma Virus) sont des virus nus (sans enveloppe) de petite taille (45 à 55 nm de diamètre) dont le génome est constitué d'ADN double brin de 8 000 paires de bases, super enroulé et associé à des histones cellulaires, avec un seul brin codant et trois régions génomiques. La région L (Late) code pour les protéines de structure L1 et L2 composant la capsid. La région E (Early) code pour 7 protéines non structurales E1-E7. La dernière région, non codante, contient les promoteurs des gènes précoces et des séquences de régulation de la réplication et de la transcription (fig. 1)(Monsonogo *et al.*, 2006; Agius *et al.*, 2006).

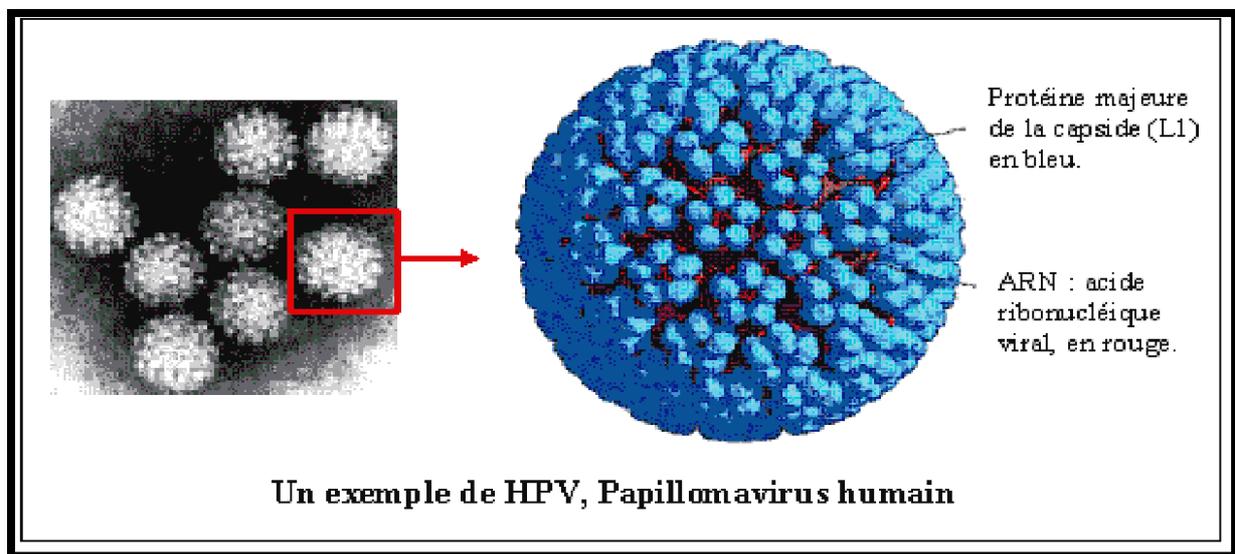


Figure 1: La structure des HPV (Rouquille .2009)

Il existe un peu plus de 120 génotypes différents qui se distinguent en fonction de leur tropisme (cutané ou muqueux), de leur propriété biologique et de leur potentiel oncogénique (bas risque ou haut risque). Ils infectent les cellules germinales de la couche basale des épithéliums malpighiens (Monsonogo *et al.*, 2006. Munoz *et al.*, 2006).

3. La classification des papillomavirus

Les papillomavirus sont classés dans les *Papovaviridae*, ce nom vient de l'association du nom de 3 virus : *Pa* pour papillomavirus, *Po* pour Polymavirus et *va* pour Virus vacuolant (Jauzein, 2009).

Les différentes espèces sont regroupées en genres (alpha-papillomavirus, beta-papillomavirus, etc.). L'appartenance au même genre est définie par une homologie de séquence L1 supérieure à 60 %. Les HPV se répartissent dans les genres alpha-papillomavirus, beta-papillomavirus, gamma-papillomavirus, mu-papillomavirus et nu-papillomavirus (Jauzein, 2009).

Il existe plusieurs manières de classifier ces virus :

A .Basée sur la séquence génomique

C'est la séquence nucléotidique du gène L1, codant pour la protéine majeure de la capsid, qui sert de base à la classification des papillomavirus. Pour qu'un nouveau type d'HPV soit reconnu, il faut que le génome complet du virus ait été séquencé et que sa séquence L1 présente une divergence de plus de 10 % avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement. Une différence de 2 à 10 % définit l'appartenance à un sous-type et une différence de moins de 2 % définit un variant. Les différents types de papillomavirus sont regroupés en espèces qui sont désignées par un numéro d'espèce. Une espèce regroupe les types présentant une homologie de séquence L1 supérieure à 70 % (De Villiers *et al.*, 2004).

Ainsi les virus initialement dénommés HPV 46, HPV 55 et HPV 64 sont maintenant considérés comme les sous-types respectifs de HPV 20, HPV 44 et HPV 34, en raison d'homologies supérieures à 90 % (De Villiers *et al.*, 2004).

La classification des HPV est présentée dans tableau 1.

Tableau 1: Classification des HPV (Villiers *et al.*, 2004)

Genre	Espèce	Type principal	Autre types	Commentaires
Alpha-papillomavirus	1	HPV 32	HPV 42	Bas risque, lésions orales ou génitales
	2	HPV 10	HPV 3, 28, 29, 78, 94	Bas risque, lésions cutanées, parfois muqueuses
	3	HPV 61	HPV 62, 72, 81, 83, 84, 86, 87, 89	Bas risque, lésions muqueuses
	4	HPV 2	HPV 27, 57	Verrues vulgaires
	5	HPV 26	HPV 51, 69, 82	Haut risque, lésions muqueuses
	6	HPV 53	HPV 30, 56, 66	Haut risque, lésions muqueuses
	7	HPV 18	HPV 39, 45, 59, 68, 70, 85	Haut risque, lésions muqueuses
	8	HPV 7	HPV 40, 43, 91	Bas risque lésions cutanées et muqueuses
	9	HPV 16	HPV 31, 33, 35, 52, 58, 67	Haut risque, lésions muqueuses
	10	HPV 6	HPV 11, 13, 44, 74	Bas risque, condylo- mes acuminés, papillo- matose laryngée
	11	HPV 34	HPV 73	Haut risque, lésions muqueuses
	12	RhPV 1		Papillomavirus singe Rhésus
	13	HPV 54		Bas risque, lésions muqueuses
	14	HPV 90		Bas risque, lésions muqueuses
	15	HPV 71		Bas risque, lésions muqueuses
Beta-papillomavirus	1	HPV 5	HPV 8, 12, 14, 19, 20, 21, 25, 36, 47, 93	Lésions cutanées, généralement bénignes. Lésions parfois malignes: épidermo- dysplasie verruciforme, immunodéprimés
	2	HPV 9	HPV 15, 17, 22, 23, 37, 38, 80	Lésions cutanées, généralement bénignes. Lésions parfois malignes: épidermo- dysplasie verruciforme, immunodéprimés
	3	HPV 49	HPV 75, 76	Lésions cutanées bénignes
	4	HPV 92		Lésions cutanées pré-cancéreuses et cancéreuses
	5	HPV 96		Lésions cutanées pré-cancéreuses et cancéreuses
Gamma-papillomavirus	1	HPV 4	HPV 65, 95	Lésions cutanées
	2	HPV 48		Lésions cutanées
	3	HPV 50		Lésions cutanées
	4	HPV 60		Lésions cutanées
	5	HPV 88		Lésions cutanées
Mu-papillomavirus	1	HPV 1		Verrues vulgaires, plantaires
	2	HPV 63		Verrues vulgaires, plantaires
Nu-papillomavirus	1	HPV 41		Lésions cutanées, retrouvé dans carcino- mes cutanés

B. Basée sur le tropisme

On distingue habituellement les types d’HPV à tropisme cutané et ceux à tropisme muqueux. Cette distinction n’est pas toujours absolue, certains types d’HPV n’ayant pas un tropisme strict pour la peau ou les muqueuses (Tableau 2) (Villiers *et al.*, 2004). Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus, alors que les HPV à tropisme cutané appartiennent essentiellement aux genres beta-papillomavirus et gamma-papillomavirus ainsi qu’aux genres mu-papillomavirus et nu-papillomavirus (Tableau 2).

Tableau 2: Distribution des types d’HPV selon leur tropisme (Villiers *et al.*, 2004).

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

Bien qu’une quarantaine de types d’HPV cutanés aient été identifiés par séquençage complet, le nombre de séquences subgénomiques ayant moins de 90 % d’homologies avec des types connus indique qu’il y a plus de 130 types putatifs et donc au total environ 170 types d’HPV cutanés (Gen et Virologie, 2007).

C. Basée sur le potentiel oncogène

Le tableau 3 présente la répartition des principaux types d’HPV en fonction de leur potentiel oncogène (Munoz *et al.*, 2006).

Il est à noter que cette répartition ne prend en considération que les HPV à tropisme muqueux, cette classification étant basée sur le risque de cancer du col de l’utérus associé à HPV.

Tableau 3: Classification des HPV ano-génitaux selon leur potentiel oncogène (Munoz *et al.*, 2006).

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

En ce qui concerne les HPV à tropisme cutané, il n'y a pas actuellement de classification en virus à bas risque ou haut risque, bien que certains types d'HPV cutanés soient indiscutablement associés au développement de carcinomes cutanés (Munoz *et al.*, 2006)

4. Le Génome viral

Les HPV sont des virus non enveloppés, de petite taille et très résistants. Le génome viral est constitué d'un ADN bicaténaire circulaire d'environ 8000 paires de nucléotides et est contenu dans une capsidie protéique icosahédrique (Carcopino, 2010).

Il comporte trois régions (fig.2).

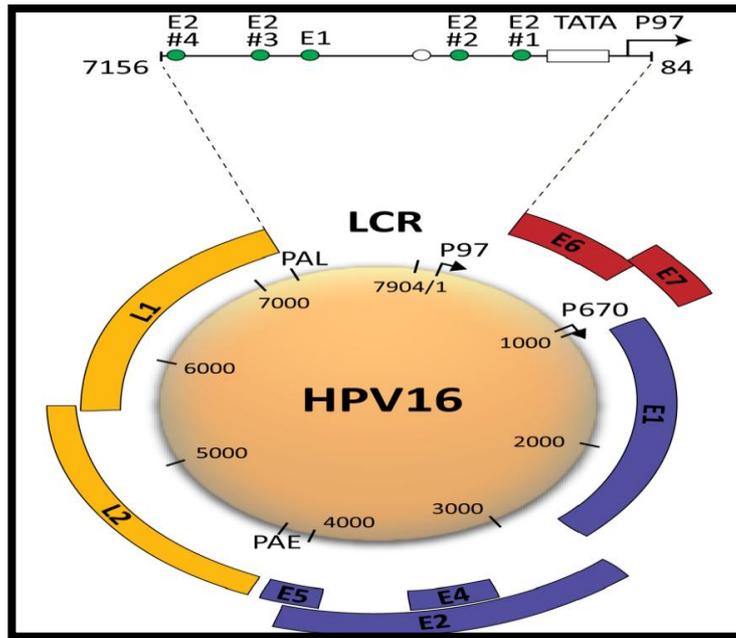


Figure 2 : Organisation du génome d'HPV de type 16 (Burk, 1999).

A. La région E (pour early)

La région précoce, appelée E pour early, représente 50% du génome et code des protéines qui sont impliquées dans la réplication de l'ADN viral (E1 et E2), la régulation de l'expression des gènes viraux (E2) et des oncoprotéines impliquées dans la transformation cellulaire (E5, E6 et E7).

- La protéine E1 est la mieux conservée des protéines virales. Elle est impliquée dans la réplication extra-chromosomique du génome viral (Yanget *al.*, 1993).
- La protéine E2 détient un rôle fondamental dans le cycle viral: elle régule la transcription des oncogènes viraux E6 et E7 et active la réplication du génome viral (Jang *et al.*, 2009 ; Tayakhajonwut et Aangeletti, 2010).
- La protéine E3 ne se trouve pas dans tous les papillomavirus et ses fonctions sont inconnues (Bennoit, 2007).
- Le produit du gène E4 interviendrait dans la maturation de la particule virale, il serait donc « abusivement » classé parmi les gènes précoces (Doorbar, 2007).
- Le cadre de lecture E5 correspond à un oncogène. Il pourrait être impliqué dans la tumorigénèse de HPV 16, mais n'est pas nécessaire au maintien de l'état transformé dans le cas de HPV 18, puisque son gène est interrompu dans les lésions cancéreuses (Corden *et al.*, 1999).

- les protéines E6 et E7 sont responsables de la transformation cellulaire : la protéine E6 exagère la dégradation de la protéine p53, elle-même favorisant la réparation de l'ADN cellulaire en bloquant la cellule en phase G1, et assurant un contrôle négatif de la croissance cellulaire et la protéine E7 se complexe avec la protéine pRB, l'empêchant de se lier au facteur de transcription cellulaire E2F qui est libre et ainsi actif sur les oncogènes c-myc, N-myc et le gène de la thymidine kinase. Ces deux protéines neutralisent ainsi deux anti-oncogènes cellulaires qui sont constitutivement exprimés dans les cancers (Boulenouar *et al.*, 2010).
- la région E8 code pour une protéine qui fonctionne comme un régulateur négatif de la transcription et de la réplication virale (Djigma, 2011).

B. La région L (pour late)

La région tardive, appelée L pour late code les protéines structurales L1 et L2, qui sont respectivement la protéine majeure et mineure de capsid (Carcopino, 2010).

- La protéine L1 est la protéine majeure de capsid. Capables de s'auto-assembler en absence d'autres protéines virales pour former des particules virales vides ressemblant à des capsides et dénommées VLP (virus like particules), ces protéines L1 possèdent les mêmes épitopes conformationnels que la protéine native et sont hautement immunogènes. Elles sont une source d'antigènes pour le développement de tests sérologiques ELISA et pour la production de vaccins (Riethmuller, 2000).
- La protéine L2, protéine mineure de capsid, est capable de lier l'ADN viral et de le positionner correctement au sein de la capsid. En association avec la protéine L1, elle permet l'assemblage du virus et la stabilisation de la capsid (Riethmuller, 2000).

C. La région LCR (pour long control region)

Sa fonction est de réguler la réplication, la transcription, la ségrégation et l'assemblage des virions. LCR est formé de l'origine de réplication virale (ORI) flanquée par des éléments en *cis* régulateurs tels que les sites de liaisons du facteur de transcription E2 (E2-BSs) et quelques promoteurs transcriptionnels (Zheng, 2006).

Les E2-BSs sont des séquences consensus palindromiques retrouvées en différents nombres selon le type de PVs. Le nombre de promoteurs varie également entre les PVs.

Deux promoteurs ont été décrits pour le HPV-16: P97, le promoteur précoce situé en amont de l'ORF E6 et P670, le promoteur tardif situé à l'intérieur de l'ORF E7. P97 régule l'expression des gènes E1, E2, E6 et E7 dans les cellules basales non-différenciées, tandis que P670 induit l'expression des gènes L1 et L2 uniquement dans les kératinocytes différenciés (Hegde, 2002).

5. Cycle viral des papillomavirus

Le cycle viral des HPV va être lié au programme de différenciation des cellules infectées ce qui implique une coordination entre l'expression des différents produits des gènes viraux et la progression des cellules infectées vers la surface de l'épithélium.

l'ensemble des évènements du cycle viral peut être divisé en cinq étapes (fig.3) (Ladame ,2009)

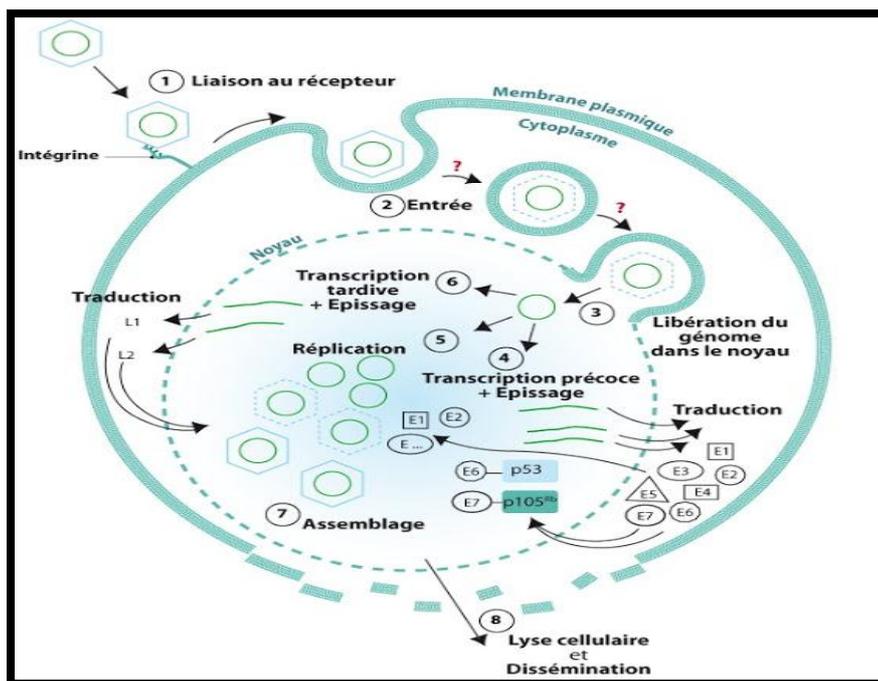


Figure3 : Cycle viral d'HPV (Rouquouille,2009)

A. Infection primaire de l'épithélium

Pour que l'infection ait lieu, les particules virales doivent avoir accès aux cellules de la couche basale de l'épithélium (Sapp et Day, 2009).

En effet, ces cellules s'avèrent peu différenciées et mitotiquement très actives (Ladame ,2009) (fig4).

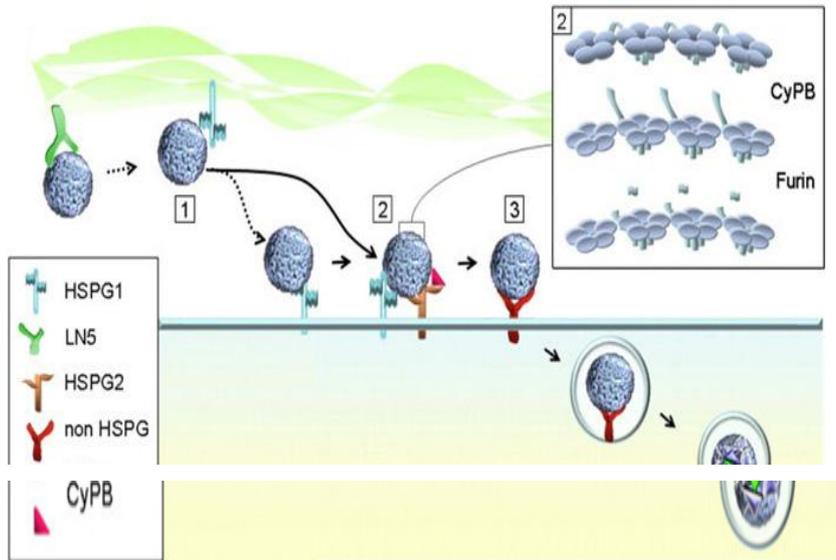


Figure4 : Modèle du mécanisme infectieux utilisé par l'HPV16 (Sapp et Day, 2009)

B. Phase de maintenance

Suite à l'endocytose des particules virales au sein des épithéliums, le génome viral est maintenu sous forme épisomique dans les cellules basales (de 10 à 200 copies extrachromosomiques). Deux protéines virales précoces vont jouer un rôle clé dans ce processus :

Les protéines E1 et E2 .En se liant à l'origine de réplication virale, elles vont permettre le recrutement de la machinerie répliquative cellulaire de l'hôte et leur expression va faciliter la ségrégation des génomes au cours de la division cellulaire (Wilson *et al.*, 2002).

La protéine E2 joue plusieurs rôles durant la production virale. Ainsi, dans les cellules basales, son expression est requise pour initier la réplication virale et la ségrégation des chromosomes. E2 est une protéine de liaison à l'ADN qui reconnaît les motifs palindromiques (AACCg(N)4cGGTT) présents dans la LCR du génome (Dell *et al.*, 2003).

L'ADN de HPV16 contient quatre motifs de liaison à E2 au niveau de sa région LCR. Deux de ces motifs bordent l'origine de réplication virale et servent au recrutement de la protéine E1. E2 intervient également dans l'ancrage du génome viral au chromosome mitotique et dans la ségrégation des chromosomes viraux (Wu et Chiang, 2007).

De plus, en tant que facteur de transcription, elle régule l'expression des protéines E6 et E7 en modulant l'activité de leur promoteur. A forte concentration, E2 agit comme un répresseur en empêchant la fixation d'autres facteurs de transcription (Bouvard *et al.*, 1994).

E2 interagit également avec les deux oncoprotéines E6 et E7 (Gammoh *et al.*, 2009) exprimées à partir du promoteur précoce, les protéines E1 et E2 participent ainsi au contrôle du nombre de copies du génome virale dans les cellules différenciées (Ladame, 2009).

C. Phase de prolifération

L'entrée du papillomavirus dans la cellule hôte est suivie d'une période d'hyperprolifération des cellules de l'épithélium supra-basal. Les oncogènes E6 et E7 seraient responsables de cette croissance. Ainsi, au cours de l'infection, l'activité de ces gènes permet à quelques cellules de la couche basale de se diviser afin de former une couche de cellules entretenant le virus sous forme épisomique (Ladame, 2009).

Dans les épithéliums sains, les cellules de la couche basale migrent vers les couches supra-basales. Elles quittent alors le cycle cellulaire et débutent un processus de différenciation terminal afin de produire une barrière de protection. Au sein des kératinocytes infectés par HPV, ce processus de différenciation n'a pas lieu et le cycle cellulaire est maintenu (Sherman *et al.*, 1997).

Le mécanisme par lequel les papillomavirus stimulent la progression du cycle cellulaire est très bien connu et similaire à d'autres virus tumorigènes. Implique les deux oncoprotéines E6 et E7 (Ladame, 2009).

A. Phase d'amplification

Les évènements qui vont déclencher l'amplification du génome viral sont peu connus mais ils dépendent de changements dans l'environnement cellulaire lors de la migration des cellules vers la surface des épithéliums. L'activation des promoteurs dépendants de la différenciation conduit à une expression accrue des protéines virales nécessaires à la réplication, c'est –à dire E1 à E5. En effet, bien que les protéines E1 et E2 jouent un rôle essentiel, les protéines E4 et E5 sont également importantes (Ladame, 2009).

E5, protéine transmembranaire, s'associe aux pompes à protons ATPases et retarde le processus d'acidification endosomal (Hwang *et al.* 1995).

Cela va affecter le recyclage des récepteurs aux facteurs de croissance et induire une augmentation de la voie de signalisation issue des récepteurs à l'EGF (Epidermal Growth Factor), contribuant ainsi au maintien des conditions favorables à la réplication. E4 s'accumule dans la cellule au moment de l'amplification virale mais son rôle n'est pas encore défini. Une partie des effets connus d'E4 serait liée à sa capacité d'association au complexe cycline Cdk2 (cyclin dépendent kinase 2) ce qui induit un arrêt du cycle à la transition G2/M (Davy *et al.*, 2006).

Elle agirait donc comme un antagoniste d'E7. Ainsi il a été suggéré que l'expression continue d'E7 dans une cellule exprimant fortement E4 entraîne le maintien de la phase S et l'accumulation de génomes viraux (Ladame, 2009).

A. Phase d'assemblage

La dernière phase du cycle virale va consister en l'assemblage de particules virales et à leur libération à la surface de l'épithélium. Les deux protéines de structure L1 et L2 sont exprimées uniquement dans les cellules exprimant E4 et dans des tissus où la phase d'amplification virale est terminée (Doorbar *et al.*, 1997).

Les évènements liant l'amplification à l'assemblage des particules ne sont pas encore connus mais dépendent de changements dans l'épissage des ARN messagers. Le génome viral doit être inclus dans une capsidie icosaédrique contenant 360 copies de L1 et 12 copies de L2 (Modis *et al.*, 2002).

Dès son expression, la protéine L2 s'accumule avec E2 au niveau de structures nucléaires : les PML (ProMyelocytic Leukemia) (Florin *et al.*, 2002).

L'assemblage des particules virales va avoir lieu lorsque les capsomères de L1 vont pénétrer dans le noyau et être recrutés par L2 au sein des PML. L'accumulation de protéines de capsid à leur niveau faciliterait ainsi l'assemblage des particules. Bien que des Particules virales puissent être assemblées en absence de L2, sa présence augmente l'efficacité d'encapsidation (Stauffer *et al.*, 1998; Zhou *et al.*, 1993).

Du fait de la nature non lytique du papillomavirus, la libération des particules virales ne survient que lorsque les cellules infectées atteignent la surface de l'épithélium.

Cette rétention des particules virales limite la détection des particules virales par le système immunitaire (Ashrafi *et al.*, 2002).

6. Mécanisme cellulaire de transformation maligne

L'un des évènements majeurs conduisant au développement tumoral est l'intégration du génome viral au sein du chromosome de la cellule hôte. Dans les cellules infectées, le génome viral peut être retrouvé soit sous forme épisomique, soit sous forme intégrée, plus stable ou un mélange des deux (Doorbar, 2006).

L'intégration virale se fait généralement au niveau des régions E1 ou E2 en aval d'E6 Et E7 et conduit à une linéarisation du génome. Dans ce cas, la perte de l'expression d'E2 induit une perte du contrôle négatif qu'elle exerce sur le promoteur précoce.

Les oncoprotéines E6 et E7 voient alors leur stabilité et leur expression augmentées. Les sites d'intégration sont distribués au hasard dans le génome de la cellule hôte (Ziegert *et al.*, 2003).

Le mécanisme moléculaire conduisant à l'intégration de l'ADN viral dans le génome cellulaire reste peu exploré. En effet, il ne s'agit pas d'une conséquence du cycle viral mais elle est détectable dans 90 % des cancers cervicaux. Il a été montré que les kératinocytes cervicaux contenant des formes intégrées de HPV apparaissent après une diminution de l'expression d'E2. La perte de l'expression épisomale d'E2 est associée à l'activation endogène de l'antigène viral et est accélérée par l'interféron β exogène

Elle conduit à une surexpression des deux oncogènes E6 et E7 dans les cellules contenant la forme intégrée du génome (Thorland *et al.*, 2000).

De plus, l'expression dérégulée des deux oncoprotéines peut induire une instabilité chromosomique en termes de nombre ou de structure. Cela augmente potentiellement l'accumulation de changements génétiques cellulaires ou épigénétiques. Ces altérations conduisent à l'activation des oncogènes et à la répression de gènes suppresseurs de tumeur. La population cellulaire acquiert alors la capacité de proliférer et d'être immortalisée ce qui favorise sa progression vers un phénotype malin. In vitro, l'expression d'E6 et E7 d'HPV de haut risque est capable d'induire l'immortalisation de kératinocytes primaires (Munger *et al.*, 1989). Cependant, ces cellules sont incapables de provoquer des tumeurs chez la souris immunodéprimée (Ladame, 2009).

II. Le cancer du col de l'utérus

1 .L'anatomie du col de l'utérus

Le col constitue la partie inférieure de l'utérus, située sous l'isthme de l'utérus. Il a une forme cylindrique de 2,5cm de diamètre pour une longueur de 3 à 4cm. Il est percé dans sa partie vaginale par un orifice, l'orifice externe du col. Cet orifice se prolonge pour former le canal cervical qui aboutit à un second orifice au niveau de l'isthme utérin, l'orifice interne du col. Le canal cervical qui traverse le col, met en relation la cavité utérine et le vagin (Mélanie ,2009).

La portion du col s'étendant à l'extérieur de l'orifice externe est appelée exocol et la portion du col située au dessus de l'orifice externe est appelée endocol (fig.5) (Mélanie ,2009).

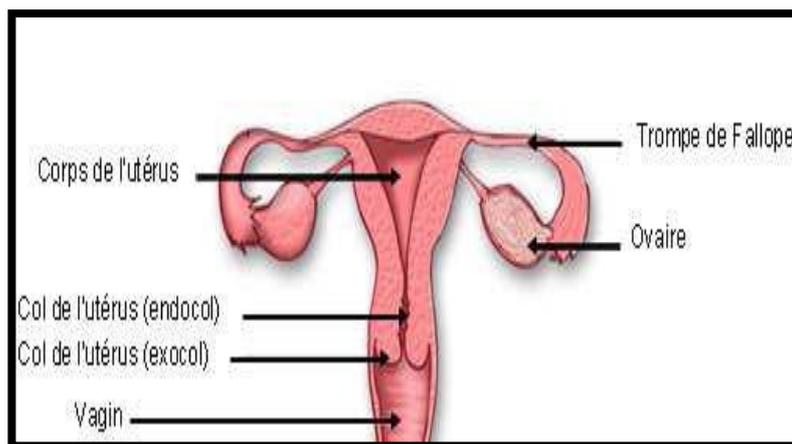


Figure 5 :L'anatomie du col de l'utérus (Mélanie ,2009).

2. Définition du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer le plus fréquent chez la femme dans le monde et le premier en terme de mortalité. Ce cancer est lié à une infection virale persistante, dont le virus en cause est à 99,7% le papillomavirus humain (HPV). Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible (Santos, 2012).

Un certain nombre de papillomavirus est retrouvé dans la sphère uro-génitale. Toutes les femmes ayant une infection ne présentent pas un cancer du col de l'utérus : les infections sont pour la plupart transitoires et spontanément résolutive, principalement chez la femme jeune, et la prévalence de l'infection diminue avec l'âge. En effet cette pathologie met en général plus de 20 ans à se développer, depuis la primo-infection par un papillomavirus oncogène à tropisme génital jusqu'aux différentes lésions histologiques précancéreuses comme le carcinome épidermoïde et l'adénocarcinome (Santos, 2012).

Les HPV génitaux sont à l'origine des IST les plus communes, qui pour la plupart sont asymptomatiques. Cependant la prévention de la transmission reste difficile car l'utilisation des préservatifs ne protège que partiellement des infections à HPV (Santos, 2012).

3. Modes de transmissions des papillomavirus

Les infections à HPV sont le plus souvent transmises lors de contacts intimes peau à peau. Les rapports sexuels avec pénétration vaginale et anale sont propices à cette

dissémination. D'autres modes de transmission sont décrits mais représentent des voies mineures de contamination. (Djigma, 2011).

A. Transmission sexuelle des HPV

De nombreuses études ont montré que les rapports sexuels sont le premier mode de transmission génitale des PVH (Thomas *et al.*, 2001 ; Czeledy, 2001).

Les condylomes n'atteignent pas les organes génitaux internes (le corps de l'utérus, les trompes et les ovaires) ; ils n'entraînent pas de stérilité. Les condylomes génitaux peuvent être uniques ou multiples ; petits ou gros ; dispersés ou regroupés pour donner un aspect en chou-fleur ou crête-de-coq. Parfois, les lésions ne sont pas visibles à l'œil nu (en particulier, sur le col utérin où le diagnostic est porté à la suite d'un frottis cervico -vaginal ; ce type de condylome est appelé aussi le condylome plan ; il est rare que les condylomes génitaux soient à l'origine de certains symptômes gynécologiques comme les douleurs, les démangeaisons génitales, les leucorrhées et les métrorragies ; ces symptômes sont souvent le témoignage d'une infection secondaire des condylomes par un autre agent infectieux (Herpès, gonocoques, syphilis, champignons ou autres germes). Des travaux, basés sur la concordance des phénotypes viraux entre partenaires sexuels ont permis de confirmer ce mode de transmission (Franceschi *et al.*, 2002 ; Bleeker *et al.*, 2005).

Il est apparu que la prévalence de l'infection à PVH chez la femme augmentait avec le nombre de partenaires sexuels qu'elle a pu avoir au cours de sa vie. Ce phénomène apparaît aussi chez l'homme mais à un degré moindre (Winer *et al.*, 2005).

Les rapports ano-génitaux sont associés à une augmentation de la détection de PVH dans le canal anal chez les hommes homosexuels ou bisexuels (Partridge et Koutsky, 2006).

La faible prévalence de l'infection à PVH chez les patientes vierges (2%) conforte le rôle majeur des rapports sexuels dans la transmission mais laisse supposer aussi que d'autres voies de contagion soient possibles, soit par des jeux érotiques sans pénétration, soit par d'autres évènements sans rapport avec la sexualité (Marrazzo *et al.*, 2000).

B. Transmission non sexuelle de HPV

▪ Transmission par vêtements et surfaces de contact

Une voie de transmission par contact de surface infectée ou de sous -vêtements a été évoquée. La présence de PVH sur les sous-vêtements de patientes avec lésions PVH induites

est authentifiée sur une étude (Czegledy, 2001). Il persistait 1,6% de PVH sur des pinces à biopsie après traitement à la chlorhexidine et 4,5% sur des pointes de sonde de cryothérapie malgré un bain dans une solution d'alcool à 90° pendant 1 heure. (Djigma, 2011).

C. Transmission mère-enfant

Bien que la voie sexuelle soit le mode de transmission de loin le plus fréquent pour cette infection, d'autres voies de contamination ont été évoquées mais leur existence est toujours controversée. Cependant, la transmission de la mère à l'enfant lors du passage dans la filière génitale infectée reste une voie de transmission accessoire actuellement démontrée grâce au développement des nouvelles techniques moléculaires (Czegledy, 2001).

Le passage trans-placentaire ou transmembranaire de PVH a été suspecté après les résultats de plusieurs études montrant la présence de PVH au niveau de caduques et de syncytio-trophoblaste lors d'avortements spontanés ou dans le liquide amniotique après amniocentèse (Riethmuller et Mouglin, 2008 ; Czegledy, 2001).

Il existe une relative diminution d'infections néonatales par PVH lorsque les patientes présentent des lésions condylomateuses et qu'elles accouchent par césarienne (Silverberg *et al.*, 2003).

Les transmissions de PVH par ingurgitation de sang maternel, de liquide amniotique, de sécrétions vaginales, ou par le biais d'abrasion cutanée sont décrites restent controversées surtout celui de l'ingestion de sang maternel car aucune phase virémique dans le cycle de PVH n'a été démontrée à ce jour. Il en est de même pour la transmission sanguine. L'infection par PVH est localisée au niveau des épithéliums cutané muqueux se trouvant dans les cellules basales sans passage sanguin (Djigma, 2011).

4. Les facteurs de risque

De nombreux facteurs exogènes et endogènes jouent un rôle dans les étapes d'initiation, de promotion et de progression tumorale (Denis *et al.*, 2008).

Le cancer du col de l'utérus est fortement corrélé avec l'infection par HPV et on estime que dans 70 % des cas l'infection par le HPV représentent le facteur de risque principal (Behar, 2012).

Cette infection virale entre dans le cadre des IST. Seul le contact sexuel avec un partenaire déjà atteint par HPV peut entraîner une contamination. Le préservatif ne protège pas à 100% contre cette IST. La prévention est donc difficile. Les autres facteurs de risque d'origine sexuelle sont les autres IST et le nombre de partenaires (Behar, 2012).

D'autres facteurs de risque indépendants du comportement sexuel ont été mis en évidence :

- **Le tabac**

Le risque de développer un CIN est en moyenne 2 fois supérieur chez les femmes fumeuses (Behar,2012) .

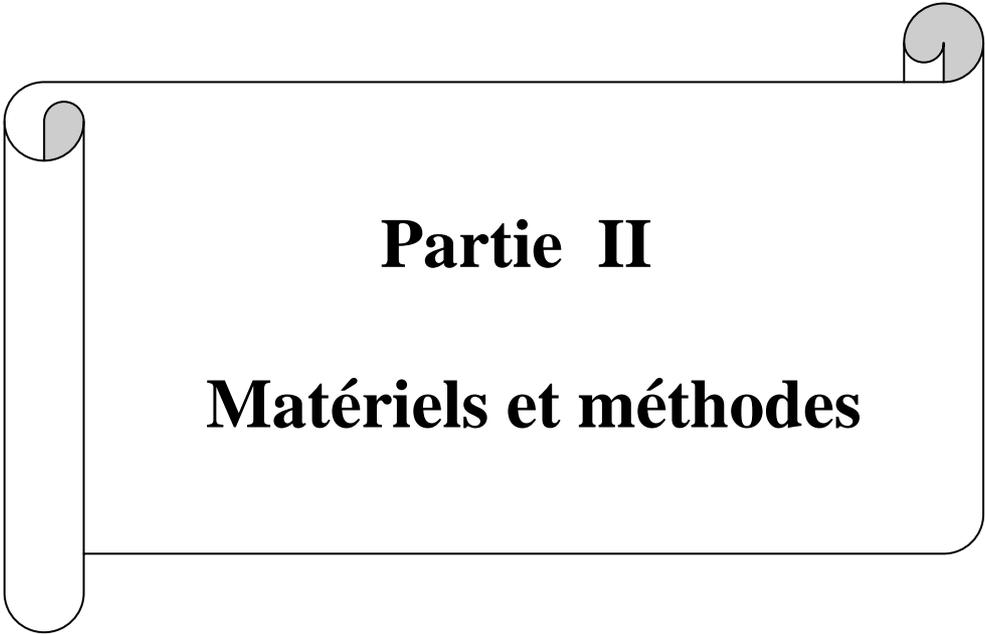
- **L'immunodépression**

Les femmes immunodéprimées ont un plus grand risque de développer des lésions dysplasiques (Yeni, 2010).

- La prise prolongée d'oestroprogestatifs (Behar,2012) .

- **Des facteurs nutritionnels**

Carence en Vitamine A, Vitamine C et Acide folique (Behar,2012).



Partie II

Matériels et méthodes

I. Patientes

Vingt échantillons cervicaux obtenus à partir de patientes pendant le mois de mai 2014 en consultation au niveau des PMI : Boudraa Salah, Belle-Vue et Boudjeriou de la Wilaya de Constantine.

- **Critères d'inclusion**

- Femmes en activité sexuelle ;
- Femmes ayant plus de 10 ans de mariage ;
- Femmes présentant des infections à répétition ;

- **Critères d'exclusion**

- Femmes enceintes ;
- Femmes habitant hors la wilaya de Constantine.

II. Frottis cervico–utérin

A. Prélèvements

Le prélèvement du frottis est un acte médical qui n'est réalisé que par un médecin ou une sage-femme dans le cadre des consultations de la protection maternelle et infantile.

- **Conditions optimales du prélèvement d'un frottis**

- A distance des rapports sexuels (72 heures).
- En dehors des périodes menstruelles, de toute thérapeutique locale ou d'infection.

- **Technique de prélèvement**

L'instrument le plus utilisé pour effectuer un frottis cervical est la capsule conçue par Ayre, cytologiste canadien, en 1947.

- **Étalement sur lame**

La lame porte-objet doit avoir une épaisseur constante d'environ 1 mm et être de bonne qualité pour éviter qu'elle ne se brise au moindre choc.

L'étalement sur lame doit être régulier, de bonne épaisseur et rapide pour prévenir le dessèchement. Toute la surface de spatule doit être en contact avec la lame porte-objet.

Les mouvements irréguliers d'étalement (circonvolution) froissent les cellules et peuvent modifier leurs formes. Il faut procéder sans délai à la fixation pour que les cellules soient bien conservées.

L'étalement sur lame permet une lecture microscopique rapide mais exige une grande dextérité au moment du prélèvement et de la fixation, pour éviter la dessiccation.

➤ **Fixation et fixateurs**

Le but de la fixation est de préserver l'état morphologique des cellules. La fixation des frottis doit être immédiate pour éviter la dessiccation qui déforme les cellules et modifie leurs affinités tinctoriales.

L'agent fixateur ne doit pas être toxique ou volatile, pour cette raison, l'alcool éthylique est le fixateur de choix, sous forme de liquide. L'alcool dénature les protéines et les acides nucléiques, et les rend insoluble et stable.

Le temps de fixation est de 15 minutes au maximum.

B. La coloration de Papanicolaou

La coloration de Papanicolaou est une technique utilisée pour les frottis cervico-utérin, et qui permet l'examen de l'imprégnation hormonale et le dépistage d'éventuelles cellules cancéreuses.

▪ **Principe de la méthode**

Le principe de cette méthode en première phase consiste à colorer les noyaux avec l'hématoxyline, qui apparaissent en bleu, violet foncé. La seconde phase de colorer le cytoplasme avec une solution de coloration orange, les structures cibles apparaissent en orange d'intensités différentes. La troisième phase est la coloration à l'aide d'un mélange d'éosine, vert lumière et de brun Bismarck, permettant la différenciation de l'épithélium pavimenteux.

➤ **Mode opératoire** (Planche 1)

- ✓ Placer les lames en eau distillée pendant 1 minute.
- ✓ Placer les lames en alcool 70° pendant 3 minutes.
- ✓ Rincer les lames à l'eau courante pendant 2 minutes.
- ✓ Placer les lames dans la solution d'hématoxyline pendant 6 minutes.

La solution d'hématoxyline de Harris est le colorant nucléaire destiné à être utilisé en histologie et cytologie. Avant d'être utilisée comme colorant nucléaire, l'hématoxyline doit être oxydée en hémateïne et combinée avec un ion métallique (mordant) comme les sels d'aluminium ou de fer. Le colorant d'hématoxyline est de colorant régressif se combine avec l'ADN nucléaire, donnant la couleur bleue violette caractéristique des colorations à l'hématoxyline.

- ✓ Rincer les lames à l'eau courante pendant 2 minutes.
- ✓ Passer les lames en solution HCL 0,25% pendant 3 secondes.

- ✓ Rincer les lames à l'eau courante pendant 2 minute.
- ✓ Placer les lames en alcool 70° pendant 1 minute .
- ✓ Placer les lames en alcool 95° pendant 1 minute .
- ✓ Placer les lames dans la solution d'OG6 pendant 3 minute. La solution OG6 est

utilisée pour la coloration de prélèvements gynécologiques, c'est un colorant cytoplasmique. Elle intervient dans la coloration de Papanicolaou pour colorer les cytoplasmes des cellules parabasales et intermédiaires en bleu-vert et des cellules superficielles en rose.

- ✓ Placer les lames en alcool 70° pendant 1 minute.
- ✓ Placer les lames en alcool 95° pendant 1 minute
- ✓ Placer les lames dans la solution d'EA50 pendant 3 minute.

La solution EA50 est utilisée pour la coloration de prélèvements gynécologiques, c'est un colorant cytoplasmique. Elle intervient dans la coloration de Papanicolaou pour colorer les cytoplasmes des cellules parabasales et intermédiaires en bleu-vert et des cellules superficielles en rose.

- ✓ Placer les lames en alcool 95° pendant 1 minute .
- ✓ Placer les lames en alcool 100° pendant 1 minute .
- ✓ Placer les lames en xylène pendant 1 min . Le xylène est principalement utilisé comme solvant et produits nettoyant
- ✓ Faire sortir en xylène .
- ✓ Montage au baume synthétique entre lame et lamelle.

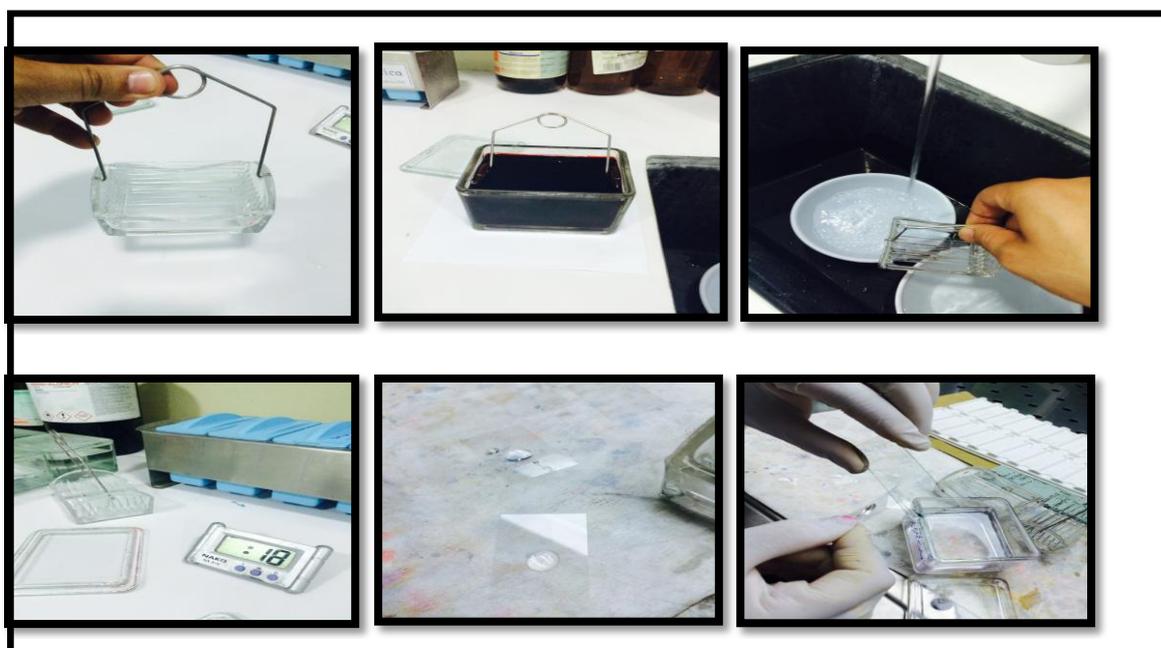


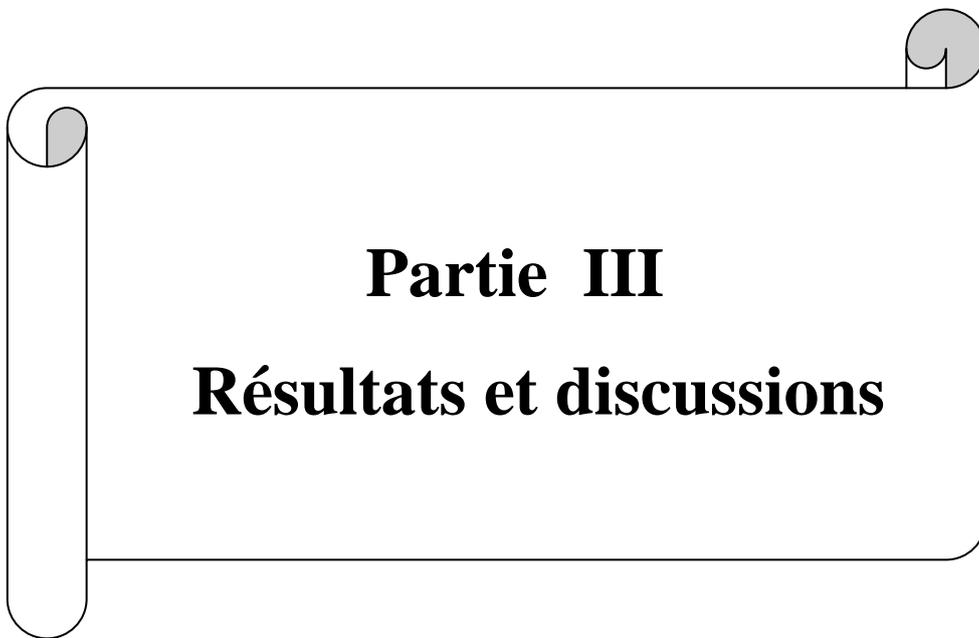
Planche 1 : La méthode de Papanicolaou

C. Interprétation des frottis cervico -utérin

Le système de Bethesda actualisé est seul recommandé pour formuler le compte-rendu cytologique.

Un frottis est jugé non interprétable Si l'un des critères suivants est présent :

- couverture de moins de 10 % de la lame par des cellules malpighiennes .
- toute situation où plus de 70 % des cellules épithéliales ne sont pas interprétables parce que masquées par du sang, une inflammation, des superpositions cellulaires, des contaminations ou des artefacts.



Partie III
Résultats et discussions

Notre travail est une étude rétrospective et prospective ayant pour but d'apprendre les méthodes d'analyse cytologique sur FCU dans le dépistage du cancer du col de l'utérus au sein du laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'EPH de la Cité El Bir, Constantine.

I. Caractéristiques générales de la population

Durant la période de notre travail, nous avons obtenu un total de 20 prélèvements cytologiques du col de l'utérus. A partir des fiches de renseignement des patientes nous avons procédé à l'analyse des :

- 1- Statut matrimonial mariée ou célibataire
- 2- Moyenne d'âge
- 3- Statut hormonal
- 4- Résultat cytologique
- 5- Suivi

Nous avons remarqué que l'âge de nos femmes varie entre 29 et 60 ans avec un âge moyen de 51,18 ans, toutes étaient mariées.

18.18% des femmes sont nullipares, 18,18% ont moins de 3 enfants et 64.81% sont multipares. Aucune des femmes n'est célibataire.

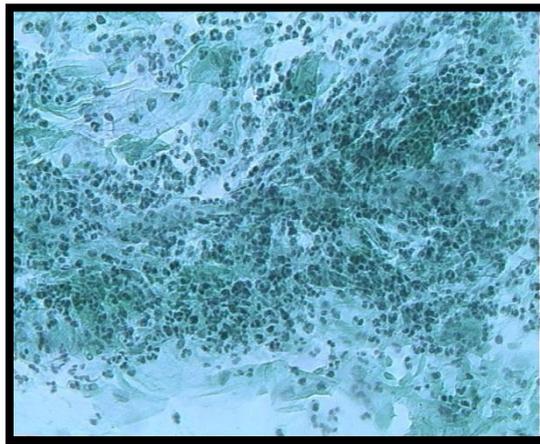
Sur l'ensemble des femmes : 27.27% n'ont utilisé aucun contraceptif dont 9% sont toujours en activité génitale, 72.72% ont utilisé des contraceptifs soit oraux soit sous forme de dispositif intra-utérin (DIU).

Par ailleurs, l'analyse du statut hormonal des femmes a montré que 45.45% sont ménopausées.

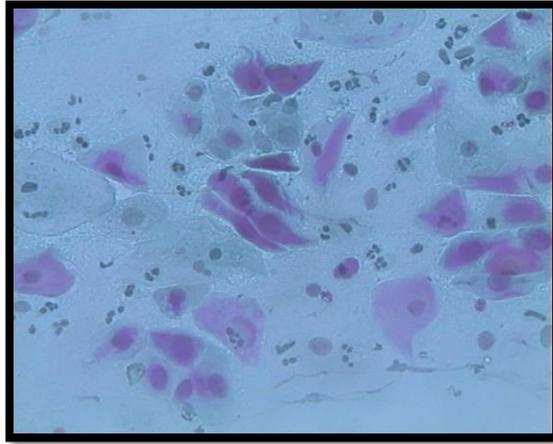
L'examen gynécologique du col utérin était réalisé avant le prélèvement pour FCU, il était le plus souvent d'aspect normal soit 64.81% de l'ensemble des cas. Les autres cas présentaient des cervicites en faveur d'un risque de cancer du col.

II. Les résultats des frottis cervico-utérin

Le frottis cervico-utérin (FCU) est le test de dépistage de référence des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus, effectué selon la procédure décrite en 1943 par Papanicolaou. Lorsqu'il est réalisé dans de bonnes conditions, le frottis permet de détecter jusqu'à 84% (89) des lésions précancéreuses et cancéreuses. L'interprétation des frottis se fait au laboratoire par un pathologiste à qui incombe la responsabilité finale du compte-rendu des résultats (photographie 1 et 2). Une bonne interprétation est essentielle pour la qualité du dépistage. Les frottis cervicaux utérin conventionnels réalisés n'ont été satisfaisants que dans 55% des cas enregistrés ce qui nous a amenés à exclure 9 patientes sur 20.



Photographie 1 : résultat d'un frottis très inflammatoire.



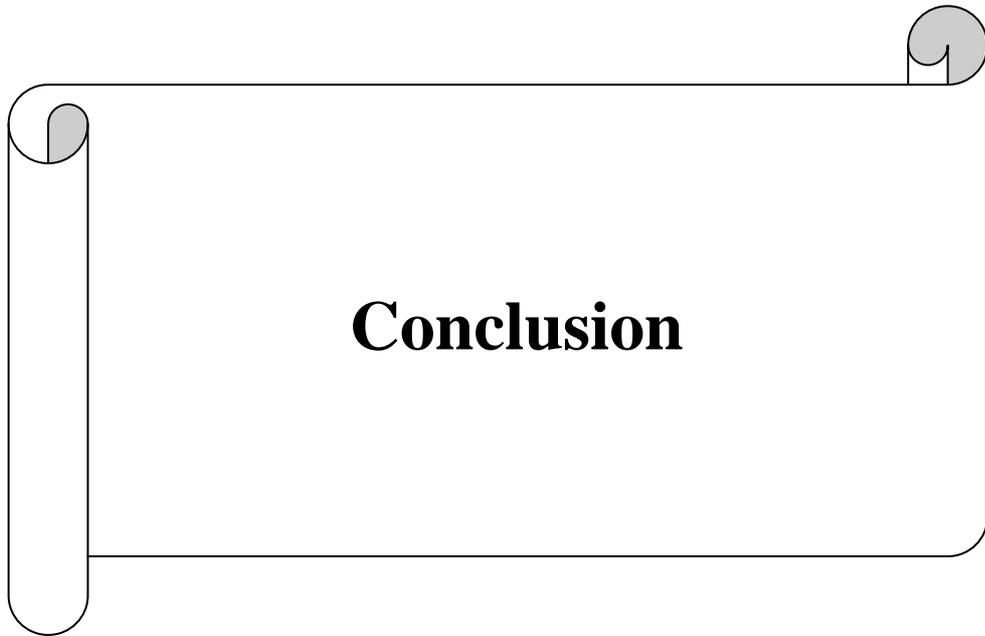
Photographie 2 : résultat d'un frottis montrant la présence des cellules atypiques.

En ce qui concerne les frottis qui étaient jugés interprétables, la cytologie du col utérin était en faveur des lésions ou modifications bénignes dans la grande majorité des cas, ces modifications correspondaient soit à l'inflammation du col ou à une infection un (1) cas d'infection à *Gardenella*, réfractaire au traitement.

Le cancer du col de l'utérus est un problème de santé publique important. L'intérêt du dépistage systématique par le FCU consiste en la recherche de lésions précancéreuses, la découverte de ces dernières permettra de traiter précocement ce cancer aux stades pré-invasifs. La détection des lésions précancéreuses par le frottis cervical et leur traitement conduit à une réduction de 91 % du risque de cancer si on suit les recommandations et que l'on se fait dépister tous les trois ans (Kjaer *et al.*, 2005).

Après avoir discuté avec les médecins il a été constaté qu'une proportion de femmes est très peu dépistée et parfois même n'ayant jamais participé au dépistage, pourtant une majorité d'entre elles sont suivies par ailleurs régulièrement sur le plan médical de nombreuses réticences de la part des femmes sont responsables d'une non-participation au dépistage : pudeur ou appréhension du geste, négligence ou peur.

Dans notre étude, l'un des problèmes que nous avons rencontré était l'obtention de lames de qualité permettant l'interprétation du FCU, dus souvent à des problèmes matériels usuels : pas d'étalement ou lame brisée ou non étiquetée.



Conclusion

Le test de Papanicolaou nous a permis dans ce travail de détecter les lésions au niveau des cellules du col de l'utérus, qui peuvent être les signes précurseurs d'un cancer du col de l'utérus.

Vingt (20) frottis cervicaux utérin ont fait l'objet de cette étude, la détection des anomalies cellulaires a été réalisée par la technique de coloration de Papanicolaou.

Le frottis cervical utérin ne prévient pas l'infection par le HPV, qui peut être à l'origine d'un cancer du col de l'utérus, mais il contribue à détecter les premiers signes de la maladie.

Cela permet au médecin d'instaurer rapidement et facilement un traitement qui, à ce stade est souvent efficace.

Au total, sur les 20 frottis, 10 frottis présentent des modifications cellulaires, 1 frottis normal et un frottis montre la présence des cellules atypiques et les autres ne sont interprétables.

Le dépistage du cancer du col utérin par le FCU permet de mettre en évidence la présence des lésions précancéreuses et les cancers débutant au niveau du col utérin, grâce à ce dépistage, une prise en charge rapide et précoce peut être débutée permettant l'augmentation de la chance d'une guérison complète de la maladie.

Les Perspectives

L'association des génotypes HPV à haut risque oncogénique et du cancer du col de l'utérus est aujourd'hui bien établie et c'est cette force d'association de près de 100% entre l'infection HPV et le cancer du col qui rend légitime la recherche du génome viral comme méthode de dépistage des lésions pré-invasives. Compte tenu du fait que les HPV ne poussent pas dans les milieux de cultures classiques et que la sérologie les concernant est très limitée et ne permet pas de faire la différence entre une infection passée ou récente, le diagnostic d'une infection par HPV est basée sur la détection de leur acide nucléique (ADN et ARN). Ce diagnostic d'infection est réalisé par des techniques de biologie moléculaire qui permettent de détecter, quantifier ou génotyper le ou les HPV présents. Schématiquement, les techniques de biologie moléculaire actuellement applicables en routine au laboratoire sont réalisées en 3 ou 4 temps (extraction, +/- amplification, hybridation, révélation), à partir d'un prélèvement effectué au niveau de la zone de jonction endocol-exocol.

Il serait judicieux de coupler du typage viral au frottis au delà de 35 ans, ce qui permettrait :

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

Références bibliographiques

- Agius G., (2006)** _Détermination structurale des lipopolysaccharides de surface chez *Sinorhizobium*. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse.
- Ashrafi GH., (2002)** _Infection and invasion of roots by symbiotic nitrogen-fixing Rhizobia during nodulation of Temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 68, no.2. American Society for Microbiology. (280-300).
- Baseman JG; Koutsky L., (2005)** _The epidemiology of human papillomavirus infections. Vol.64, no.2. (419-426).
- Bleeker, MC; Hogewoning C.J; Berkhof J; Voorhorst F.J; Hess Eelink AT; Van Diemen PM., (2005)** _Concordance of specific human papillomavirus types in sex partners is more prevalent than would be expected by chance and is associated with increased viral loads. Vol.41, no.5. (612-620).
- Boulenouar, S; Weyn, C; Van noppen; Moussa Ali, M; Favre, M; Delvenne, PO., (2010)** _Effects of HPV-16 E5, E6 and E7 proteins on survival, adhesion, migration and invasion of trophoblastic cells. Vol.31 no.3. (473-480).
- Bouvard, V; Storey, A; Pim, D; Banks, L., (1994)** _Characterization of the human papilloma virus E2 protein: Evidence of transactivation and transrepression in cervical keratinocytes. 52:1267-1276.
- Charlotte BouladeLadame ., (2009)** _Cancer du col de l'utérus : Etude de l'oncoprotéine E6 du papillomavirus humain de type 16 et adressage de vecteurs adénoviraux .
- Corden, S.A; Sant-Cassia, L.J; Easton, A.J., (1999)** _The integration of HPV-18 DNA in cervical carcinoma. Vol.52, no5. (275-282).
- Czegledy, J., (2001)** _Sexual and non -sexual transmission of human papillomavirus. Vol. 48, no.3. (511-517).
- D, Riethmuller ; MOUGIN, C., (2008)** _Transmission maternofoetale des human papillomavirus. Paris: Vigot.
- Davy, CE; Ayub .M, Jackson; DJ, Das .P; McIntosh, P; Doorbar, J., (2006)** _HPV16 E1E4 protein is phosphorylated by Cdk2/cyclin A and relocalizes this complex to the cytoplasm. *Virology*. Vol. 3, no.49 (230-244).
- Dell, G; Wilkinson, KW; Tranter, R; Parish J; Leo Brady, R; Gaston, K., (2003)** _Comparison of the structure and properties of the E2 proteins from an oncogenic and a nononcogenic human papillomavirus. 334:979-91.

- Denis, F ; Hanz, S; Alain, S ;(2008)** _Clairance, persistance et récurrence de l'infection à Papillomavirus. *Gynécologie Obstétrique et Fertilité*. Vol. 36, no.4 (430-440).
- Djigma, W.F., (2011)** _Caractérisation moléculaire des papillomavirus humains et leurs co-infections avec les mycoplasmes chez les femmes VIH-séropositives et négatives à Ouagadougou.
- Doorbar J., (2007)**_Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Dis Markers*.Vol.23, no.4 (297-313).
- E.M, De Villiers ; C, Fauquet, T. Broker ; H.U, Bernard ; H.Zur Hausen., (2004)**_Classification of papillomaviruses *Virology*, 324 (pp. 17–27).
- Esmo., (2012)** _Cancer du col utérin : un guide pour les patientes-Basé sur les recommandations de l'ESMO-v.2012.1.
- Flores, ER; Allen-Hoffmann BL; Lee D; Sattler CA; Lambert PF.,(1999)**_Establishment of the human papillomavirus type 16 (HPV-16) lifecycle in an immortalized human foreskin keratinocyte cell line. *Virology*; 262:344–54
- Florin, L; Sapp, C; Streeck, RE; Sapp, M., (2002)**_Assembly and translocation of papillomavirus capsid proteins. *J Virol* 76:10009-14.
- Franceschi, S; Castellsagué, X; Dalmaso, L; Smith, JS., (2002)** : Prevalence and determinants of human papillomavirus genital infection in men. *Br J Cancer*. Vol.86,no.5 (705-711).
- Fremont-Smith, M; Marino, J; Griffin, B; Spencer, L; Bolick, D.,(2004)** : Comparison of SurePath® liquid-based Pap test to Conventional Pap test in a Multi-site Direct-to-Vial Study. *Cancer Cytopathology*, Vol 102(5), pp. 269-279).
- Gammoh N, Isaacson E, Tomaic V, Jackson DJ, Doorbar J, Banks L (2009)**: Inhibition of HPV-16 E7 oncogenic activity by HPV-16 E2. *Oncogene* 28:2299-304.
- Harper, DM., (2004)**_Efficacy of a bivalent L1 virus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomised controlled trial. *Lancet*. 364:1757-65.
- Hegde, RS.,(2002)**_The papillomavirus E2 proteins: structure, function, and biology. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.*;31:343-360.

- Hwang, ES; Nottoli, T ;Dimaio, D., (1995)**_The HPV16 E5 protein: expression, detection, and stable complex formation with transmembrane proteins in COS cells. *Virology* 211:227-33.
- IARC Working group., (1995)** : IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risks ISBN : 978-2-11-008038-7. To human. Vol. 65, Lyon, France: International agency for research on cancer.
- Jang, MK; Kwon, D; Mcbride, AA., (2009)** _ Papillomavirus E2 Proteins and the Host Brd4 Protein Associate with Transcriptionally Active Cellular Chromatin. *J Virol.* Vol.83,no6(2592–2600).
- Jauzein,f.,(2009)** :Le virus HPV , cycle normal, génome et déclenchement du cancer .
- Marrazzo, JM; Stine, K; Koutsky, LA., (2000)**_Genital human papilloma virus infection in women who have sex with women: a review. *Am J Obstet Gynecol.*Vol.183,no.3(770-774).
- Modis, Y; Trus, BL; Harrison, SC., (2002)**_ Atomic model of the papillomavirus capsid. *Embo J* 21:4754-62.
- Monnier, Benoit,S., (2007)** _Statut viral immunité muqueuse: Des marqueurs prédictifs de l'historique naturelle des lésions cervicales associer aux HPV .
- Monsonogo, J.,(2006)** _Infections à papillomavirus, état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Paris: Springer. 978-2-287-33479-5. 245pp.
- Mougin, C ; Bernard, B., (1997)** _Lab M. Biologie des infections à papillomavirus: I. Caractéristiques générales. *Ann Biol Clin* ; 55 : 555-63.
- N, Muñoz; X, Bosch; S, de Sanjosé; R, Herrero., (2006)** _C.J.L.M. MeijerEpidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer.
- O. Forslund., (2007)**_Genetic diversity of cutaneous human papillomaviruses *J. Gen. Virol.*, 88, pp. 2662–2669.
- Pittayakhajonwutd, Angeletti PC., (2010)** _Viral trans-factor independent replication of humanpapillomavirus genomes. *Virol J.*; 7, 123.
- Rouquille, N., (2009)** _Papillomavirus et cancers associes: données actualises sur le dépistage,les recommandations et la prophylaxie vaccinale.
- SAGNA, Tani., (2012)** _Caractérisation moléculaire du VIH et du papillomavirus humain chez les femmes en âge de procréer infectées etdiagnostic précoce par PCR du VIH chez leurs enfants aucentre médical Saint Camille et au CERBA – Ouagadougou
- Sapp, M; Day, PM., (2009)**_Structure, attachment and entry of polyoma- and papillomaviruses. *Virology* 384:400-9.

Sherman, ME; Schiffman, MH; Lorincz, AT.,(1997): Cervical specimens collected in liquid buffer are suitable for both cytologic screening and ancillary human papillomavirus testing. *Cancer* 81:89-97.

Silverberg, M; Thorsen, P; Lindeberg, H; Grant, L; Shah, K., (2003) _Condyloma in pregnancy is strongly predictive of juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. *Obstet Gynecol.*; 101(4), 645-52.

Stauffer, Y; Raj, K., (1998)_Infectious human papillomavirus type 18 pseudovirions. *J Mol Biol* 283:529-36.

Thomas, DB; Ray, RM; Kuypers, J; Kiviat, N; Koetsawang, A., (2001): Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. The role of husbands and commercial sex workers. *Am J Epidemiol.*vol.153, no.8 (740-748).

Thorland,EC;Myers, SL;Persing, DH; Sarkar, G; McGovern, RM; Gostout, BS; Smith, DL., (2000)_Human papillomavirus type 16 integrations in cervical tumors frequently occur in common fragile sites.

Tseng, CJ; Liang, CC; Soong, YK; Pao, CC., (1998)_Perinatal transmission of human papillomavirus in infants, relationship between infection rate and mode of delivery. *Obstet Gynecol.* Vol.91, no.1 (92-96).

Wilson, VG; West, M; Woytek, K; Rangasamy, D., (2002)_Papillomavirus E1 proteins: for function, and features. *Virus Genes* 24:275-90.

Winer,RL; Kiviat, NB; Hughes, JP; Adam, DE; Lee, SK; Kuypers, JM; Koutsky, LA., (2005)_Development and duration of human papillomavirus lesions. *Vol.191,no.5, (731-780).*

Wu, SY; Chiang, CM., (2007)_The double chromatin adaptor Brd4 and transcriptional regulation. *J Biol Chem* 282:13141-5.

X. Carcopino ; M. Henry ; D. Olive ; L. Boublia ; C. Tamalet ;(2011) _Médecine et maladies infectieuses 41:68–79.

Yeni, P., (2010) _Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH ; recommandations du groupe d'experts. La documentation française, Paris. 417 pages.

Yugawa, T; Kiyono, T., (2009) _Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: novel functions of E6 and E7 oncoproteins. *Rev Med Virol*: 19(2): 97–113.

Zheng, ZM; Baker, CC., (2006) _Papillomavirus genome structure, expression, and posttranscriptional regulation. *Front Biosci.*11: 2286-2302.

Zhou, J; Stenzel, DJ; Sun XY; Frazer, IH.,(1993)_Synthesis and assembly of infectious bovine papillomavirus particles in vitro. J Gen Virol 74 (Pt 4): 763-8.

Ziegert, C; Wentzensen, N; Vinokurova, S; Kissel'ov, F; Eienkel, J; Hoeckel, M; von Knebel Doeberitz, M., (2003)_A comprehensive analysis of HPV integration loci in ano-genital lesions combining transcript based amplification techniques. Oncogene 22:3977-84.

ZUR HAUSEN, H., (2009) _ Human papillomavirus and cervical cancer. Indian J Med Res. 130,209 pp.

Annexes

A. Annexe 1

- Composition des colorants :

Og6 :

Alcool éthylique (> 85 %)
Colorants Orange II (< 0,5 %)
Acide phosphotungstique (< 0,1 %)

Ea50 :

Acide phosphotungstique (< 0,1)
Acide acétique (< 2,5 %)
Colorants (0,5%)
Alcool éthylique (>70 %)
Alcool méthylique (<25%)
Eau (<2,5%)

Hématoxyline de Harris :

Éthylène glycol (< 25%)
Acide acétique (< 2%)
Colorants (<0,4%)
Agent oxydant (<0,1 %)
Sulfate d'aluminium (3,5%)

B. Annexe 2

- Définitions :

 **Alcool éthylique:** est un alcool de formule semi-développée $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$. C'est un liquide incolore, volatil, inflammable et miscible à l'eau en toutes proportions.

 **L'éosine:** est un colorant de couleur orange-rosé, un acide, qui a une affinité sélective pour le cytoplasme cellulaire (végétal ou animal); il se fixe aux molécules basiques. On l'utilise souvent avec l'hématoxyline qui colore bien les noyaux cellulaires. C'est pour cette raison très utilisée comme colorant pour la microscopie en laboratoire.

 **Le xylène:** est principalement utilisé comme solvant dans diverses préparations et types de produits

C. Annexe 3

- Le questionnaire utilisé pour le dépistage du cancer du col de l'utérus :

DÉPISTAGE DU CANCER DU COL

Centre de prélèvement.....Fait par.....

Date..... Date de naissance.....

Nom.....Prénom.....Epouse.....

Fonction.....Adresse.....Tél.....

Gestion Parité Abrt DDR Ménopause

Contraception oral DIU Autres

Age du 1^{er} rapport.....Nombre de partenaire..... Tabagisme

Traitement hormonal.....

Etat du col.....Frottis antérieurs num.....

Nom : Benkhrourou Nom : Rouili	Prénom : Okba Prénom: Haroun	Date de soutenance : 25-06-2014
---	---	---

Diplôme : Master II Génétique moléculaire

Thème :

Implication du papillomavirus humains dans cancer du col de l'utérus

Résumé :

Les infections à papillomavirus humains à haut-risque (HPV-HR) sont responsables de 100% des cancers cervico-utérins. Les infections du col utérin sont généralement transitoires et bénignes. Cependant, en cas d'infection persistante, elles peuvent s'accompagner d'une progression vers des lésions (pré)cancéreuses du col utérin. En termes d'incidence, le cancer du col utérin reste au deuxième rang des cancers féminins mondialement et au premier rang en termes de mortalité. Le diagnostic se fait encore le plus souvent à des stades évolués ce qui rend la prise en charge thérapeutiques difficile et de coût élevé.

Il existe un moyen de dépistage de ce cancer, simple, non douloureux et gratuit en milieu hospitalier dont l'efficacité a été prouvée, il s'agit du frottis cervico-vaginal (FCV) qui peut être réalisé par tous les médecins.

Nos objectifs étaient d'apprendre dans une population consultante à l'EPH de la Cité El-Bir, à réaliser des frottis cervico-vaginaux. D'effectuer une analyse épidémiologique sur la série de patientes recrutées.

Notre étude a porté sur les prélèvements de col de l'utérus qui ont été envoyés au service d'anatomie pathologique de l'EPH, Cité El-Bir pour examen histologique.

Nous avons fait une saisie simple des données. Le statut matrimonial était précisé chez toutes les patientes.

Le papillomavirus humain (HPV) reste l'agent dont la responsabilité est la plus parfaitement démontrée dans la survenue du cancer du col utérin, il serait responsable de plus de 90% des cas du cancer du col utérin.

Mots Clés : HPV, FCU, Prélèvements

Laboratoire de de l'anatomie, EPH, Cité El-Bir, Constantine

Directrice de recherche : Mr Rezgoune.ML

Devant le jury :

Président	: M ^{me} Benhizia.H	Maitre de conference Classe B	U.C.1
Encadreur	: Mr Rezgoune.ML	Maitre Assistant Classe A	U.C.1
Co-encadreur	: M ^{lle} Khacha.H	Doctorante	U.C.1
Examinatrice	: M ^{me} Bechkri.S	Maitre Assistante Classe A	U.C.1