

الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد بوقرة بومرداس

Université M'hamed BOUGARA de Boumerdès



Faculté des Sciences

Département de Biologie

Mémoire de projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master II

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biotechnologie et pathologie moléculaire

Thème

Étude rétrospective et bio-informatique de la persistance du virus HPV 16 et 18 vers des lésions précancéreuses de la wilaya de Tipaza durant l'année 2019-2020.

Présenté par : KRITLI Dalila

Devant le jury :

Promotrice : ABDUL HUSSAIN A.S. MCA (BPC/USDB)

Co-promoteur : MESSAOUDENE Djamel MCB (FS/UMBB)

Examinatrice : BOUKERCHA Aziza MCB (FS/UMBB)

Année universitaire :

2019/2020



Remerciements

Mes remerciements vont avant tout, à DIEU tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donnée durant toutes ces longues années d'études afin que je puisse arriver à ce stade. Et incha'Allah aller encore plus loin dans un accomplissement personnel et professionnel.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma promotrice, Madame **ABDUL HUSSAIN A.S.** Je la remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé. Merci pour votre confiance et votre patience.

Grâce à elle, sa disponibilité, ses judicieux conseils et le temps qu'elle m'a consacré ainsi qu'aux outils méthodologiques qu'elle a mis en ma disposition, j'ai pu mener à bien la conduite de cette recherche. Son exigence m'a grandement stimulé, c'était une expérience des plus enrichissantes que j'ai pu vivre à ses côtés. J'espère pouvoir collaborer avec elle durant les années à venir.

Un grand merci également à Monsieur **MESSAOUDENE Djamel**, mon co-encadreur, pour avoir eu la patience de répondre à mes innombrables questions, ainsi que pour ses conseils et sa disponibilité.

Je remercie en particulier Monsieur **MERASLI Djillali**, directeur de l'EPSP de Bousmail, pour m'avoir donné l'occasion extraordinaire de réaliser mon travail de terrain.

Je tiens également à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner mon travail et de le corriger.

Enfin, je voudrais exprimer ma reconnaissance envers ma famille et mes amis qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail ;

A mes chers parents pour leur amour inconditionnel, ainsi que tous leurs sacrifices à mon égard, mon éducation, mon instruction ainsi qu'à mon bien-être. Aucune dédicace ne saurait exprimer tout le respect que je porte à leur encontre et toute l'affection que je leur porte. Que DIEU le tout puissant veille sur eux et leur accorde santé, bonheur et longue vie et fait en sorte que jamais je ne les déçoive ;

A mon frère et à ma sœur, sans lesquels rien ne serait possible aujourd'hui ;

Merci Chawki pour toutes les fois où tu m'as montré ton soutien, que ce soit grâce à ton attentive oreille où bien grâce à ton humour bien particulier ;

Merci Salima pour ton soutien aussi bien sur le plan moral que sur le plan intellectuel, ainsi que pour ta patience dans les moments de joie mais surtout dans les moments de peine ;

A mes grands-parents pour leur amour et leur soutien infinis et sans comparables ;

A tata Lila et à tonton Yahia, ainsi qu'à leur famille de m'avoir ouvert leur porte aussi chaleureusement et d'avoir été présents et de m'avoir soutenu au cours de mon parcours ;

A toute ma famille et mes amis pour leur amour et leur support.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités Anato - Pathologiques de l'appareil génital féminin.....	3
1. Anatomie.....	3
2. Les différents cancers de l'appareil génital féminin.....	3
3. Infection au HPV.....	4
4. Cytologie du col de l'utérus.....	5
5. Épidémiologie des infections liées au HPV.....	7
6. Évolution d'une infection à HPV à haut risque vers un cancer du col de l'utérus.....	8
Chapitre II : Papillomavirus humain HPV.....	11
1. Généralités sur le papillomavirus humain.....	11
2. Classification du papillomavirus humain.....	11
3. Mode de transmission des papillomavirus humains.....	12
4. Cycle viral des papillomavirus humains.....	13
Chapitre III : Étude moléculaire.....	19
1. Structure des papillomavirus humains.....	19
2. Organisation génomique.....	19
Chapitre IV : Généralités sur la bio-informatique.....	24
1. Généralités et historique sur la bio-informatique.....	24
2. Généralités sur les outils utilisés en bio-informatique.....	24
Chapitre V : Matériel et méthodes.....	28
1. Étude rétrospective.....	28
1.1 Matériel.....	28
A. Matériels utilisés dans le laboratoire de cytologie.....	28
B. Matériels utilisés dans le laboratoire de l'anatomie pathologie.....	28
1.2 Méthodes.....	29
A. Protocole de l'étude cytologique.....	29
B. Protocole de biopsie.....	30
2. Étude bio-informatique.....	30
2.1 Matériel.....	30
A. Matériel informatique.....	30
B. Outils bio-informatiques.....	30
C. Les séquences protéiques à analyser.....	31
2.2 Méthodes.....	32
A. Téléchargement des séquences protéiques.....	32
B. Utilisation de BLAST.....	33

Chapitre VI : Résultats et interprétation.....	36
1. Étude rétrospective.....	36
2. Étude bio-informatique.....	51
Discussion.....	55
Conclusion.....	59
Références biobibliographiques.....	61
Résumés	

Liste des figures

Figure 1 Anatomie du col de l'utérus	4
Figure 2 Cellules basales	5
Figure 3 Cellules intermédiaires.....	5
Figure 4 détail des couches basale, parabasale et intermédiaire.....	6
Figure 5 Cellules superficielles	6
Figure 6 Cellules de l'endocol en « nid d'abeilles »	7
Figure 7 Estimations du nombre de nouveaux cas de cancer du col utérin : 569,847cas	7
Figure 8 Évolution d'une infection à HPV oncogène vers un cancer du col de l'utérus	10
Figure 9 Les étapes essentielles du cycle viral, l'entrée, la décapsidation, ou encore l'assemblage et la sortie des virus.....	13
Figure 10 Intégration du génome du papillomavirus humain.....	16
Figure 11 Organisation de la capsidie d'un virion de HPV-16, avec un arrachement révélant la protéine L2 (rouge) de la capsidie associée à la surface intérieure de la protéine L1 (bleu).....	19
Figure 12 Représentation des protéines virales des différentes régions.	20
Figure 13 Schéma de la LCR d'HPV16 présentant les sites de liaison des facteurs de transcription TFIID, Sp1, YY1, AP1, NF1, TFI, le site d'interaction de E1 avec l'origine de réplication virale et les quatre sites de liaison à E2	22
Figure 14 Représentation schématique du génome d'HPV : exemple d'HPV16.....	23
Figure 15 Page d'accueil de GenBank	26
Figure 16 Page d'accueil de la base de données « Protein Database » de NCBI.....	31
Figure 17 Page d'accueil de BLAST.	31
Figure 18 Utilisation de la base de données « Protein Database » de NCBI.....	32
Figure 19 Format FASTA d'une séquence protéique	33
Figure 20 Utilisation de BLAST	34
Figure 21 Répartition de la prévalence du virus HPV dans différentes unités dans la wilaya de Tipaza durant l'année 2019-2020.....	36
Figure 22 Pourcentage des nombres de frottis selon la tranche d'âge.....	37
Figure 23 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de l'unité.	37
Figure 24 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de la tranche d'âge.	38
Figure 25 Pourcentage des nombres de frottis HPV total, oncogène et non oncogène en fonction des unités.....	39
Figure 26 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction des unités.....	39
Figure 27 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction de la tranche d'âge.	40
Figure 28 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction de la tranche d'âge par unité.	41
Figure 29 Répartition des pourcentages des frottis HPV + en fonction des facteurs de risque... ..	41
Figure 30 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction des facteurs de risque par unité.	42
Figure 31 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ par type de lésion.....	42
Figure 32 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ par type de lésion par unité au niveau de la wilaya de Tipaza pendant l'année 2018.....	43
Figure 33 FCV230-2 (GX 40).....	45
Figure 34 FCV 230 -1 (GX 10).....	45
Figure 35 FCV 256 - 1 (G x 40).....	46
Figure 36 FCV 256 - 1 (G x 40).....	46
Figure 37 FCV 1319 - 2 (GX40).....	46

Figure 38 FCV 1319 - 1 (GX40).....	46
Figure 39 FCV 238 -1 (GX 40).....	47
Figure 40 FCV 238 -1 (GX 40).....	47
Figure 41 FCV 248 - 2.....	47
Figure 42 FCV 248 - 1.....	47
Figure 43 FCV 688 - 2.....	48
Figure 44 FCV 688 - 1.....	48
Figure 45 FCV 655 - 2.....	48
Figure 46 FCV 655 - 1.....	48
Figure 47 FCV 1354 - 2 (GX40).....	49
Figure 48 FCV 1354 - 1 (GX10).....	49
Figure 49 FCV 1367 - 2 (GX40).....	49
Figure 50 FCV 1367 - 1 (GX10).....	49
Figure 51 FCV 295 - 2 (GX40).....	50
Figure 52 FCV 295 - 1 (GX40).....	50
Figure 53 FCV 555 - 2.....	50
Figure 54 FCV 555 - 1 (GX40).....	50
Figure 55 Alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18	52
Figure 56 Dot plot de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18.....	53
Figure 57 Alignement des séquences des oncoprotéines E7 de HPV-16 et HPV-18	54
Figure 58 Dot plot de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18.....	54

Liste des tableaux

Tableau I Classification histologique des lésions cervicales précancéreuses.....	9
Tableau II Les différents types de lésions cutanéomuqueuses et les génotypes viraux associés.....	11
Tableau III Classification des HPV selon leur potentiel oncogène.....	12
Tableau IV Propriétés biologiques des protéines de HPV-HR.....	21
Tableau V Propriétés biologiques des protéines de la capsid de HPV-HR.....	22
Tableau VI Historique et évolution de la bio-informatique.....	25
Tableau VII Séquences protéiques à analyser.....	32
Tableau VIII Les résultats de BLAST.....	35
Tableau IX Représentation des lames avec la recommandation cytologique.....	44
Tableau X Les séquences à analyser.....	51
Tableau XI Résultat global de l'alignement des séquences.....	52
Tableau XII Résultat global de l'alignement des séquences.....	53

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

HPV : Human papillomavirus.

HPV-16 : Human papillomavirus type 16.

HPV-18 : Human papillomavirus type 18.

p53 : protéine 53.

pRb : Protéine du rétinoblastome.

CDK : Cyclin-dependent kinase.

ORF : Open Reading Frame = Cadre de lecture ouvert.

LCR : Locus Control Region.

HSPG : Heparan sulfate proteoglycan.

E6AP : E6 Associated Protein.

HPV-HR : Papillomavirus humain à haut risque.

CR : conserved region.

hTERT : Human Telomerase reverse transcriptase.

CE : carcinomes épidermoïdes.

ADC : adénocarcinomes.

CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia.

L-SIL : Lésions de bas-grade.

H-SIL : Lésions de haut-grade.

VLP : particules de type virus.

CI : Cellule intermédiaire.

KC : Koilocyt Cells.

CS : Cellule superficielle.

PN : Polynucléaire.

CPB : Cellule parabasale.

PK : Parakeratose.

VHS-2 : Virus Herpes simplex.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

EMBL : European Molecular Biology Laboratory = Laboratoire européen de biologie moléculaire.

PIR : Protein Information Resource.

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool.

NCBI : National Center for Biotechnology Information.

NIH : National Institutes of Health.

ENA : European Nucleotide Archive.

ASCH : Atypical Squamous Cell evocating High grade lesion.

Introduction

Introduction

L'une des causes de cancer des plus importantes dans le monde est les infections, qu'elles soient virales ou non. C'est ce que rapporte le CIRC, qui indique également que près de 2 millions nouveaux cas de cancers sont recensés chaque année dans le monde suite à ces causes-là **(Martel et al., 2012)**.

Les infections par les virus aboutissant à des cancers voire des décès sont considérées comme assez faibles par rapport à d'autres facteurs plus importants. Cela est justifié par le nombre de cas des infections virales enregistrés annuellement, parmi les agents les plus communs se trouve : le papillomavirus humain (HPV), le virus de l'hépatite B (HBV), le virus de l'hépatite C (HCV) et le virus d'Epstein-Barr (EBV) **(Bailey et al., 2016)**.

Le papillomavirus humain par exemple est l'un des agents infectieux des plus récurrents, car les infections génitales qu'il peut provoquer et qui sont sexuellement transmissibles constituent près de 660 millions de cas chaque année **(OMS, 2007)**.

Ce virus (HPV) fait partie de la famille des *Papillomaviridae*, qui ont une affinité pour l'épithélium stratifié de la peau et des muqueuses. Cette famille comporte environ 200 types, mais uniquement 30 ou 40 d'entre eux sont capables de provoquer des symptômes, d'attaquer la région ano-génitale et de provoquer des maladies telles que des cancers du col de l'utérus **(Lee et al., 2013)**.

Cette maladie est principalement causée par le papillomavirus humain. D'ailleurs, de nombreuses études prouvent que le HPV est l'agent pathogène principal dans cette maladie sexuellement transmissible.

Bien que le cancer du col utérin soit présent en plus grand nombre chez les femmes âgées, il ne faut tout de même pas négliger le fait que les femmes plus jeunes peuvent en souffrir. Cependant, il faut savoir que d'autres facteurs sont impliqués dans l'évolution de l'infection au HPV vers des lésions précancéreuses ou des cancers du col de l'utérus **(Kouskous, 2012)**.

En cas d'hémorragies génitales, il est conseillé de consulter chez un spécialiste, car l'un des principaux signes cliniques d'une phase précancéreuse qui doit alarmer et qui peut dans certaines situations durer des années entières **(Barasso, 1995 ; Zamiati, 2001)**.

En matière de statistique, le cancer du col utérin prend la deuxième place mondiale, et ce du point de vue de l'incidence et de la mortalité **(Anorlu, 2008)**. En Algérie, environ 1400 nouveaux cas sont présumés annuellement **(Boudriche, 2013)**.

L'introduction bibliographique de la présente étude se présente en différentes parties. La première partie consiste à présenter l'appareil génital féminin, son anatomie, sa cytologie, mais également les différents cancers qui peuvent l'atteindre, l'épidémiologie de infections liées au HPV et l'évolution d'une infection au HPV vers des cancers du col utérin.

La seconde partie consiste à présenter le papillomavirus humain à proprement dit, cela va de sa classification jusqu'à son cycle viral en passant par ses différents modes de transmission.

Dans la troisième partie, nous présentons tous les aspects moléculaires du papillomavirus humain. Nous présentons sa structure, son organisation génomique en détaillant toutes les

Introduction

protéines et leurs fonctions en mettant le point sur le oncoprotéines E6 et E7 dont le rôle est crucial dans cette étude.

Dans la quatrième partie, nous avons fait un travail expérimental en collaboration avec le laboratoire de cytologie de Benazzouz (Koléa). Celui-ci nous a permis d'étudier les méthodes et l'efficacité du dépistage du cancer du col utérin chez la femme Algérienne dans la wilaya de Tipaza.

Enfin, la cinquième et dernière partie est consacrée à une étude bio-informatique effectuée grâce à plusieurs outils essentiels tels que BLAST. Cette étude nous a permis de comparer entre les deux oncoprotéines E6 et E7 retrouvées dans les types HPV-16 et HPV-18 qui font l'objet de cette étude.

**Étude
bibliographique**

Chapitre 01 :
Généralités anatomo-
pathologiques de
l'appareil génital

1. Anatomie

L'appareil génital féminin est formé par un groupe d'organes génitaux impliqués dans l'activité sexuelle et par la même occasion dans la reproduction.

- Les organes génitaux externes = la vulve.
- Les organes génitaux internes = le vagin, les trompes, les ovaires, et l'utérus. (Gillot, 2019).

1.1 L'utérus

Il est divisé en deux parties :

- Une partie haute (le corps de l'utérus) : augmente de volume de façon considérable pendant la grossesse, car c'est le lieu de développement de l'embryon. Il se prolonge, de chaque côté, à sa partie supérieure, par les trompes et les ovaires.
- Une partie basse (le col de l'utérus) : il est possible de l'examiner grâce au spéculum.

1.2 Le col utérin

Est la portion fibromusculaire basse de l'utérus. Il est de forme cylindrique ou conique. Il mesure 3 à 4 cm de long et 2.5 à 3.5 cm de diamètre, ses dimensions et sa forme diffèrent selon l'âge de la femme, la parité et le statut menstruel de la femme (Sellors et Sankaranarayanan, 2004).

La surface externe de la partie du col qui fait saillie dans le vagin est appelée exocol, le revêtement de la lumière est appelé endocol. La zone de contact entre ces deux portions est dite zone de jonction (Lansac et al., 2002).

- **Exocol** : facilement visible, il est recouvert par un épithélium en continuité de celui du vagin. Comme l'épithélium pavimenteux du vagin, l'épithélium de l'exocol est pavimenteux stratifié appelé épithélium malpighien non kératinisant de couleur rose constitué de plusieurs couches de cellules, riche en glycogène durant la période de maturité sexuelle (Stevens et Lowe, 2002).
- **Endocol** : il est tapissé par un épithélium cylindrique glandulaire muco-sécrétant de couleur rouge constituée d'une seule couche de cellules. L'épithélium de l'endocol est plissé en cryptes ressemblant faussement à des glandes. Son renouvellement s'effectue à partir de cellules de réserve encore indifférenciées, disposées en couche discontinue (Lansac et al., 2002 ; John et al., 2004).
- **Zone de jonction** : C'est la zone de contact entre l'exocol et l'endocol, se situant à l'orifice externe, qui se fait de manière abrupte entre l'épithélium malpighien excervical et l'épithélium glandulaire endocervical (Noël et al., 2002).

2. Les différents cancers de l'appareil génital féminin

2.1 Cancer des ovaires

Parce qu'il se développe doucement et silencieusement, il est trop souvent diagnostiqué à un stade évolué.

2.2 Cancer du corps utérin

On l'appelle aussi **cancer de l'endomètre**, car il se développe à partir de la muqueuse qui tapisse intérieurement la cavité utérine.

Il diffère du cancer du col de l'utérus par ses facteurs de risque, son diagnostic ou encore son traitement (**Tortora, 2007**).

2.3 Cancer du col de l'utérus

C'est un cancer d'origine infectieuse, il se développe sur la muqueuse du col de l'utérus. C'est une pathologie dont l'évolution est lente, car elle commence par une dysplasie cervicale, qui est une étape précancéreuse.

Ce cancer est induit viralement et débute dans la zone de jonction lorsque des cellules de la muqueuse cervicale dégénèrent en cellules malignes. Il est d'origine épithéliale parmi lesquels se trouvent les carcinomes épidermoïdes (CE), qui sont les plus fréquents (80 à 90 %), et les adénocarcinomes (ADC), qui sont plus rares (**Tortora, 2007**).

3. Infection au HPV

Bien que les HPV soient étudiés depuis les années 1970, le lien de causalité entre infection à HPV-HR et cancer du col utérin n'a été affirmé clairement qu'au milieu des années 1990, notamment grâce à une étude épidémiologique de grande ampleur (**Bosch et al., 1995**).

Un faisceau d'arguments avait auparavant évoqué ce lien de causalité à travers de nombreuses études sur des modèles animaux, des études épidémiologiques ainsi que des études fondamentales (**Dürst et al., 1983 ; Muñoz et Bosch, 1992**). D'autres études ont par la suite confirmé que près de 100% des cancers du col utérin abritaient des HPV-HR et que ces cancers ne peuvent pas se développer sans présence de HPV-HR (**Walboomers et al., 1999 ; Bosch et de Sanjosé, 2002**).

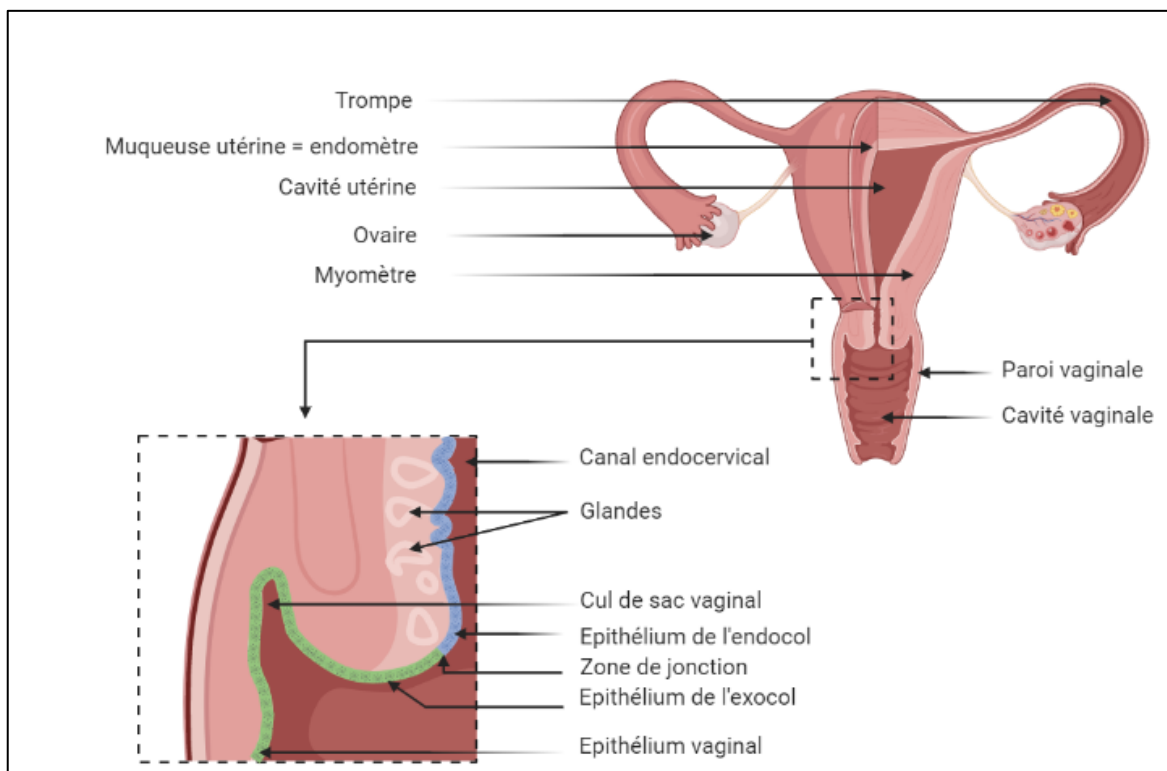


Figure 1 Anatomie du col de l'utérus (image personnelle., 2020).

4. Cytologie du col de l'utérus

4.1 Au niveau de l'exocol

- **Cellules basales profondes**
 - Elles ne sont pas présentes dans le frottis.
 - Elles ne se retrouvent dans le frottis qu'en cas d'érosion du col ou lorsque le prélèvement est vigoureux.
 - Dans l'atrophie vaginale elles sont surmontées par quelques assises de cellules parabasales. Ces cellules sont les plus petites, rondes ou ovalaires à cytoplasme cyanophile foncé et à noyau rond, volumineux (**Bouhadef.,2016**).

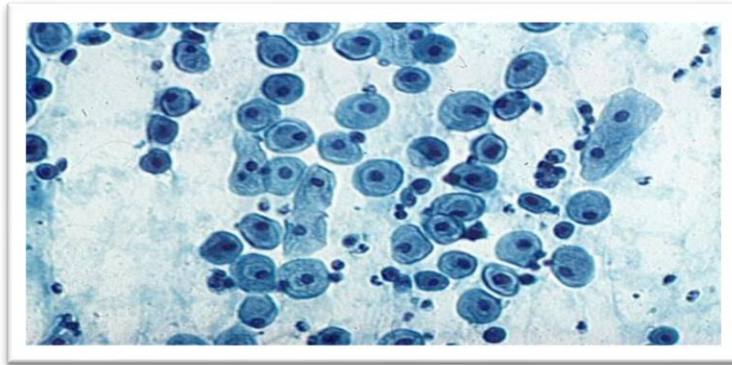


Figure 2 Cellules basales (Bouhadef.,2016).

- **Cellules intermédiaires**

Ce sont des cellules de taille moyenne de forme polyédrique à cytoplasme cyanophile et noyau vésiculaire. L'abondance des desmosomes dans les couches intermédiaires explique leur mode de desquamation en placards. Il faut également noter le plissement du cytoplasme (**Bouhadef.,2016**).

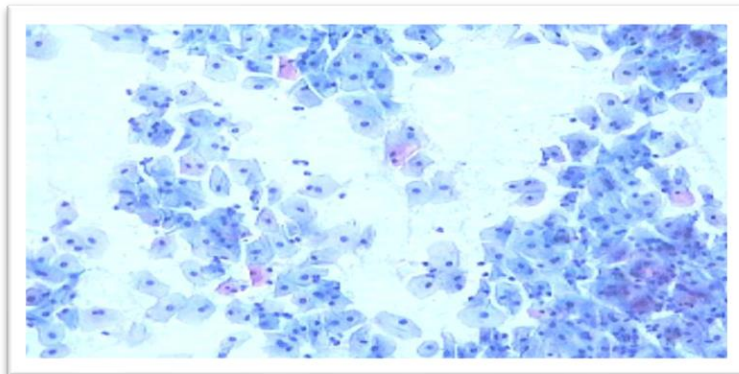


Figure 3 Cellules intermédiaires (Bouhadef.,2016).

- **Cellules parabasales**

Plus volumineuses que les cellules basales, elles sont arrondies, à cytoplasme cyanophile, parfois dotées de vacuoles. Le noyau est rond volumineux. Elles prédominent dans les frottis atrophiques et sont rares chez la femme en activité génitale (**Bouhadef.,2016**).

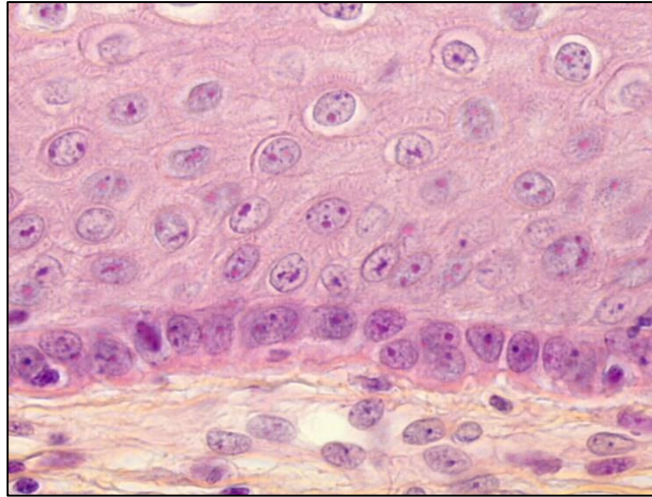


Figure 4 détail des couches basale, parabasale et intermédiaire (OMS., 2018).

- **Cellules superficielles**

Ce sont des cellules de grande taille, d'aspect polyédrique, à contour bien limité, à noyau pycnotique noir ou violet, à cytoplasme clair, transparent, éosinophile ou cyanophile. Ces affinités tinctoriales varient suivant le degré de maturation de la cellule. Elle desquame en placards ou sous forme isolée (Bouhadeb.,2016).



Figure 5 Cellules superficielles (OMS., 2018)

4.2 Au niveau de l'endocol

- **Cellules endocervicales**

Ces cellules desquament isolément ou en placards. Elles sont nombreuses dans les grattages de l'endocol ou de l'exocol, en cas d'ectropion (Bouhadeb.A ,2016).

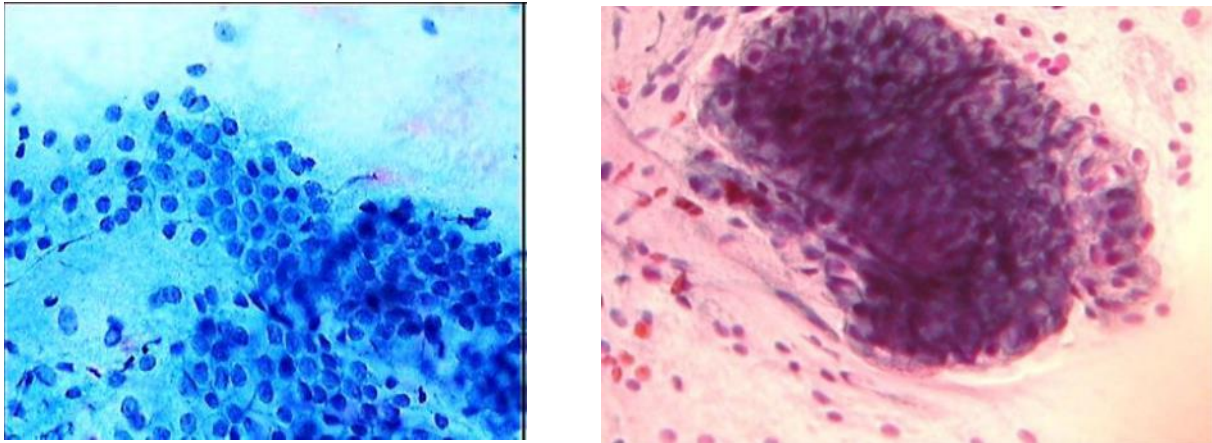


Figure 6 Cellules de l'endocol en « nid d'abeilles » (BouhadeF.A, 2016).

5. Épidémiologie des infections liées au HPV

Le cancer du col de l'utérus est le troisième type de cancer le plus répandu dans le monde, avec environ 569,847 de nouveaux cas estimés annuellement et 311,365 de décès en 2018. La majorité de ces cas sont des carcinomes avec des cellules des squameuses qui évoluent vers des adénocarcinomes.

Ce type de cancer est aussi le deuxième cancer le plus répandu pouvant toucher les femmes de 15 à 44 ans dans le monde (Globocan., 2018).

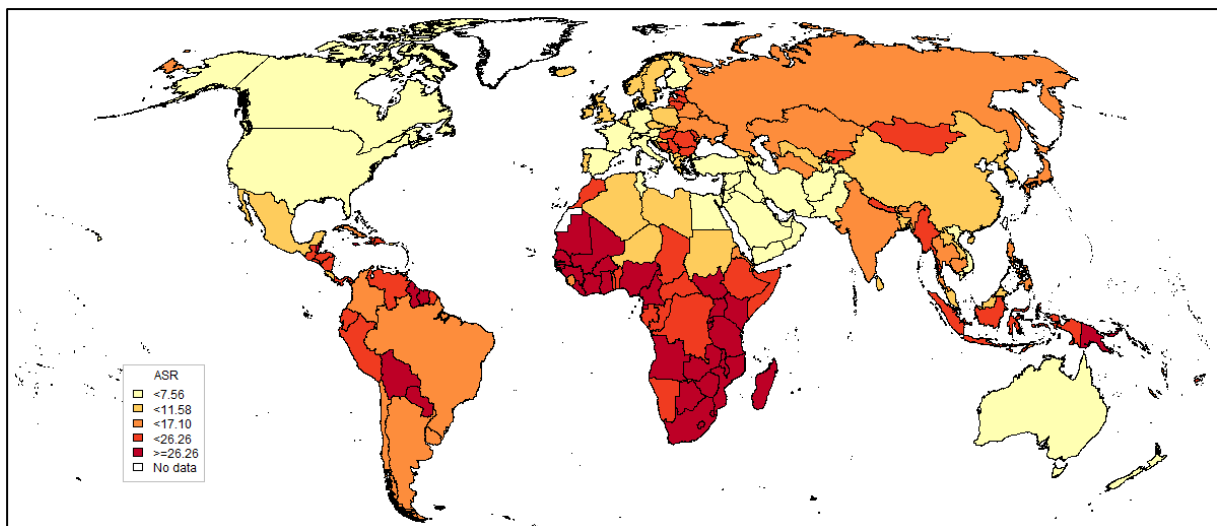


Figure 7 Estimations du nombre de nouveaux cas de cancer du col utérin : 569,847cas.

- **En Afrique**

Le nombre de cas de cancer du col estimé chaque année est de 119,284 en 2018. Cependant, il existe beaucoup de variations entre les différentes régions :

- 24.1 pour 100.000 par an en Afrique de l'Est (pic en Tanzanie : 59.1 pour 100.000 par an),

- 43.1 pour 100.000 par an en Afrique du Sud,
- 29.6 pour 100.000 par an en Afrique de l'Ouest,
- 26.8 pour 100.000 par an en Afrique du Centre,
- 7.2 pour 100.000 par an en Afrique du Nord où l'incidence varie entre 4.0 pour 100.000 par an en Tunisie, et 17.2 pour 100.000 par an au Maroc et 8.1 pour 100.000 en Algérie (**Globocan., 2018**).

- **En Algérie**

Selon l'institut national de la santé publique (INSP) en 2010, l'Algérie a recensé 12,5% des cancers féminins et une incidence brute de 8.1 pour 100 000 femmes. La majorité des femmes algériennes élucident leurs cancers à un stade très avancé de la maladie ce qui diminue le taux de survie de 80% (**Khenchouche, 2014**).

6. Évolution d'une infection à HPV à haut risque vers un cancer du col de l'utérus

Le cancer invasif du col de l'utérus est une pathologie d'origine infectieuse à évolution lente qui met plus de dix ans à se développer (**IARC. IARC handbooks of cancer prevention: cervix cancer screening. Lyon: 2005**).

6.1 Infection par HPV haut risque

Les HPV à HR sont impliqués dans plus de 99% des cancers du col. Le site le plus souvent concerné est la zone de transformation du col. Bien que plusieurs types de ce virus aient un tropisme génital, ce sont les HPV 16 et 18 qui sont les plus récurrents dans les lésions immédiatement précancéreuses et les cancers.

Sa transmission s'effectue par sexuellement et ce sont généralement les femmes qui sont âgées de 20 à 70 ans qui sont sa principale cible (**Monsonogo, 2006**).

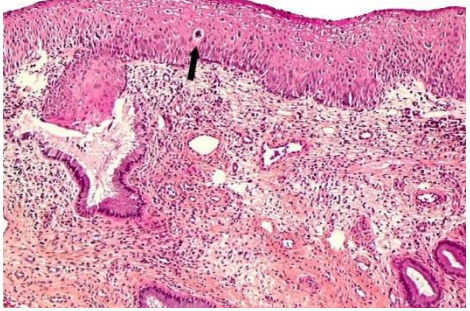
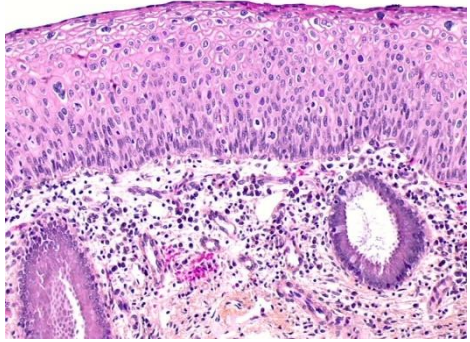
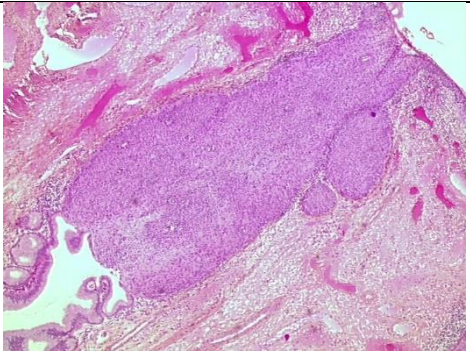
6.2 La persistance des lésions cervicales précancéreuses

L'infection par le HPV à haut risque peut se produire tôt dans la vie et il est possible qu'elle persiste. En association avec d'autres facteurs favorisant la transformation des cellules, peut conduire à une progression graduelle de la maladie (**Burd, 2003**).

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

- **La classification histologique** : les modifications associées au HPV sont appelées *néoplasies intraépithéliales cervicales (CIN ; Cervical Intraepithelial Neoplasia)* et sont notées de 1 à 3, en fonction de la profondeur des cellules anormales. Le système CIN est basé sur l'architecture des tissus (**Burd, 2003**). Voir la classification dans le (tableau I) :

Tableau I Classification histologique des lésions cervicales précancéreuses.

CIN	Composition	Coupes histologiques
CIN 1	<ul style="list-style-type: none"> Dysplasie légère et condylome (verrues anogénitales). Lésions dont 1/3 de la profondeur de l'épithélium est anormal (Braaten et Laufer, 2008). 	
CIN 2	<ul style="list-style-type: none"> Lésions avec prolifération anormale de jusqu'à 2/3 de l'épithélium (Braaten et Laufer, 2008). 	
CIN 3	<ul style="list-style-type: none"> Dysplasie sévère et carcinome in situ (CIS) (Braaten et Laufer, 2008). 	

- **La classification cytologique** : basée sur le système de Bethesda 2001 :
 - **Lésions de bas-grade ou (L-SIL)** : (Low Squamous Intraepithelial Lesion) lésions malpighiennes intra épithélial de bas grade correspondant à CIN1.
 - **Lésions de haut-grade (H-SIL)** : (High-Squamous Intraepithelial Lesion) lésions malpighiennes de haut grade regroupant CIN2 et CIN3 (**Braaten et Laufer, 2008**).

6.3 Progression vers un cancer invasif

C'est le cas où des cellules anormales envahissent l'épaisseur du tissu conjonctif fibreux, sous-jacent à la membrane basale.

Quatre voies, participent au processus de progression du cancer invasif :

- Propagation à l'intérieur du col.
- Propagation aux structures voisines.

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

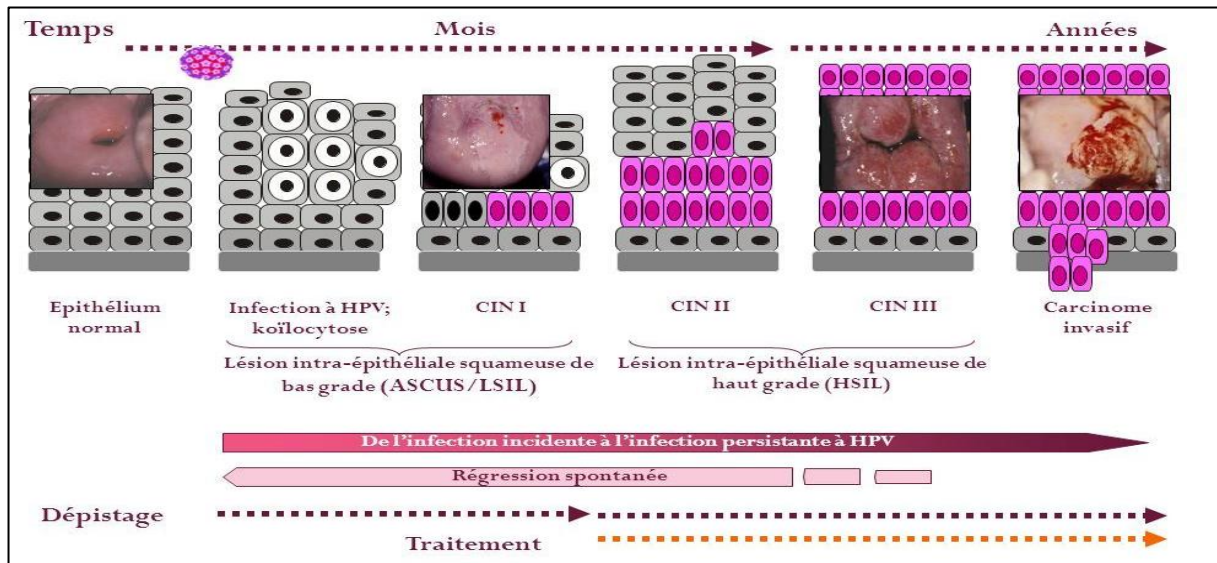


Figure 8 Évolution d'une infection à HPV oncogène vers un cancer du col de l'utérus (Doorbar, 2006).

Chapitre 02 :
Papillomavirus humain
HPV

1. Généralités sur le papillomavirus humain

Les papillomavirus sont des virus à ADN dont l'infection provoque généralement des lésions épithéliales bénignes (verruës) (Zheng 2006). Ce sont des virus non enveloppés ayant un tropisme pour les tissus épithéliaux squameux.

Certains types de HPV à haut risque, tels que HPV-16, HPV-18, ont été associés à environ 70 % des cancers invasifs du col utérin et plus de 90% des lésions intraépithéliales de haut grade (Folashade Ogunmodede 2007).

Le type 16 a été détecté chez 24 % des femmes infectées, tandis que le type 18 n'a été détecté que chez 9 %.

2. Classification du papillomavirus humain

2.1 Classification basée sur la séquence génomique

La séquence nucléotidique du gène L1 qui code pour la protéine majeure de capsid est le facteur déterminant de cette classification. Si un nouveau type de HPV étudié est en chemin d'être classé, il faut que son génome complet soit séquencé et que sa séquence L1 présente une divergence de plus de 10 % avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement (Segondy, 2008).

Grâce à cette classification, il est possible de citer 39 genres distincts. Si deux virus de la famille des *Papillomaviridae* partagent 60 à 70 % de similarité dans leurs gènes L1, ils sont considérés comme étant de la même espèce. De plus, pour définir un type, il est nécessaire que dans la même espèce, des individus partagent entre 71 et 89 % d'identité de la séquence L1.

2.2 Classification basée sur le tropisme

Il y a les types HPV à tropisme cutané et ceux à tropisme muqueux. Les HPV à tropisme muqueux appartiennent au genre *alpha-papillomavirus*, les HPV à tropisme cutané appartiennent essentiellement aux genres *beta-papillomavirus* et *gamma-papillomavirus* ainsi qu'aux genres *mu-papillomavirus* et *nu-papillomavirus* (Segondy, 2008).

Tableau II Les différents types de lésions cutané-muqueuses et les génotypes viraux associés.

Localisation de l'infection	Types viraux impliqués
Peau	1, 2, 3, 4, 7, 10, 57, 60, 63
	27 et 49 chez les patients immunodéprimés
	5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20 à 25, 36, 46, 47, 50
Muqueuse génitale	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
	6, 11, 30, 40, 42 à 44, 56 à 58, 61, 62, 66
	6, 11
	6, 11, 54
	16, 34
Muqueuse oropharyngée	13, 32
	6, 11, 16
Muqueuse laryngée	6, 11, 32

2.3 Classification basée sur le pouvoir oncogène

Cette classification épidémiologique est basée sur la fréquence des génotypes viraux retrouvés dans les cancers du col de l'utérus

- Les HPV de type 16 et 18 sont particulièrement agressifs et ils sont responsables des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin, mais également d'autres localisations ano-génitales (anus, vagin, vulve, pénis).
- Le virus HPV-16 est associé à plus 50 % des cas des cancers du col de l'utérus.
- Le virus HPV-18 est quant à lui associé à plus de 18 % des cas des cancers du col de l'utérus.

Tableau III Classification des HPV selon leur potentiel oncogène (*Segondy, 2008*).

Classification	Types
HPV de bas risque	6,11,40,42,43,44,54,61,70,72,81
HPV de haut risque	16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68,73,82
HPV de risque intermédiaire	26,34,53,57,66,83

3. Mode de transmission des papillomavirus humains

Les papillomavirus humains sont des virus qui infectent la peau et les muqueuses. La transmission interhumaine a lieu essentiellement par contact direct (**Louie et al., 2008**).

3.1 Transmission sexuelle

Le papillomavirus humain est l'infection sexuellement transmissible la plus courante (**Braaten et Laufer, 2008**). Il est apparu que la prévalence de l'infection à HPV chez la femme augmentait avec le nombre de partenaires sexuels qu'elle avait pu avoir durant sa vie. Ce phénomène apparaît aussi chez l'homme, mais à un degré moindre (**Gavillon et al., 2010**). 70 à 80% des femmes sont exposées au moins une fois à ce virus au cours de leur vie sexuelle, ce qui montre une importante contagiosité (**Monsonogo, 2007**).

3.2 Transmission non sexuelle

La transmission peut également être non sexuelle, qui se fait par : Contact avec des objets (vêtements, serviettes de toilette, draps...) et surfaces contaminés (piscines et douches favorisent la propagation des verrues plantaires). La voie « médicale » : l'infection pourrait être transmise par les instruments médicaux contaminés par le virus, mais elle est rare (**Czegledy, 2001**).

3.3 La transmission mère-enfant

Il apparaît que la transmission de la mère à l'enfant lors du passage dans la filière génitale infectée reste une voie de transmission accessoire. Le taux de transmission des HPV serait plus important lors d'un accouchement par voie basse que lors d'une césarienne (**Rombaldi et al., 2008 ; Czegledy, 2001, Park et al., 2012**).

3.4 La transmission orogénitale

Elle est également démontrée par différentes recherches scientifiques. (Kjaer SK *et al.*, 2001).

4. Cycle viral des papillomavirus humains

Les HPV ont un tropisme particulier pour les cellules des épithéliums malpighiens (épithéliums squameux stratifiés) dont la différenciation influence le cycle viral productif. Le cycle de vie des HPV est couplé à la différenciation cellulaire.

- Infection non productive observée lors des phases d'établissement et de maintien de l'infection.
- Phase productive qui correspond à une phase d'amplification au cours de laquelle des virions complets sont formés.
- Latence puis réactivation du génome viral.
- Intégration du génome viral au génome de l'hôte ou ;
- Le génome viral peut s'intégrer au génome de l'hôte. C'est la progression vers des lésions précancéreuses puis cancéreuses (Bodily et Laimins, 2011).

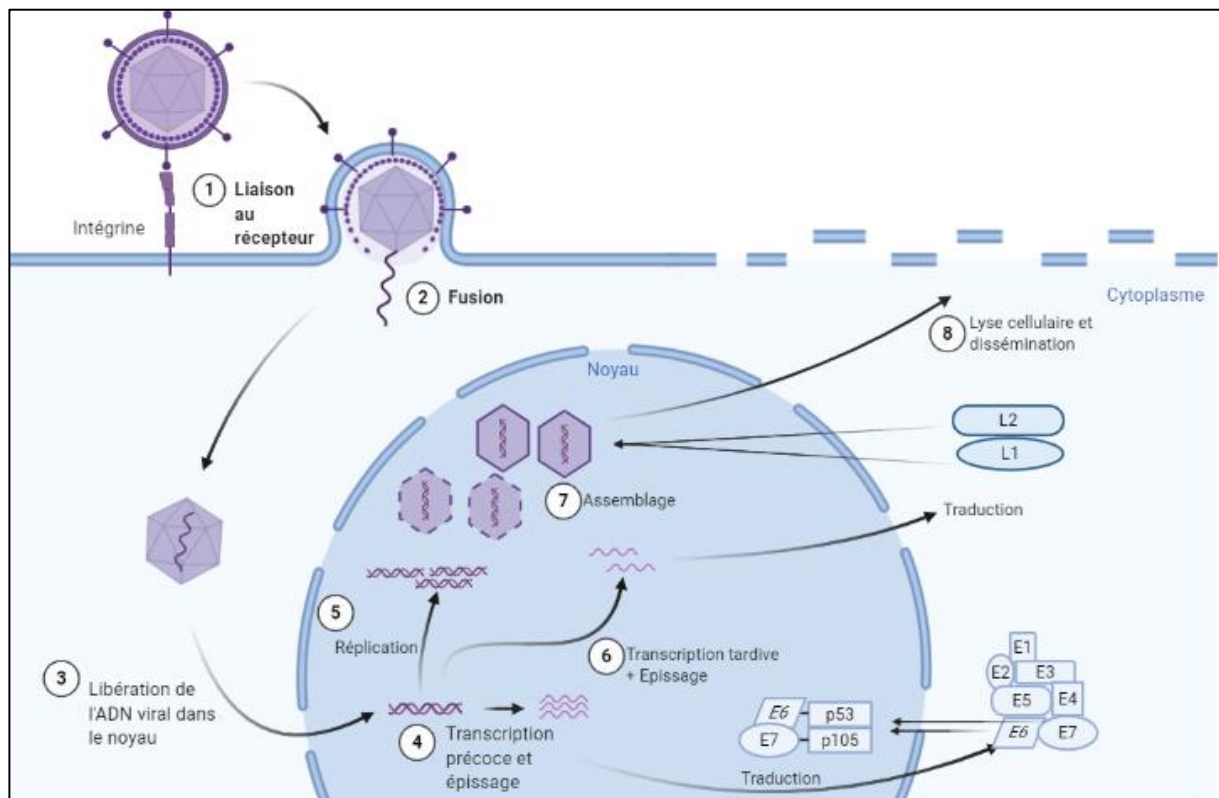


Figure 9 Les étapes essentielles du cycle viral, l'entrée, la décapsidation, ou encore l'assemblage et la sortie des virus (*image personnelle.*, 2020).

4.1 Cycle viral productif

A. Infection primaire de l'épithélium : récepteurs cellulaires, attachement et endocytose

Les cellules de la couche basale de l'épithélium squameux sont les cellules auxquelles doivent accéder les particules dans le but d'aboutir à une infection. Cela est dû au fait que ce type cellulaire est très peu différencié le rendant très actif en matière de mitose (**Sapp and Day, 2009**).

Lorsque le virus entre en contact avec sa cellule cible, il s'y attache grâce à des motifs antigéniques retrouvés sur sa surface (protéines L1 et L2 de la capsid) qui parviennent à reconnaître des récepteurs spécifiques de la protéine virale retrouvés sur la surface de la cellule de l'hôte (**Marianne Naspetti, 2016**).

Bien que cela soit justifié, il semble que les héparanes sulfates protéoglycanes (HSPG) peuvent avoir un rôle dans l'attachement et l'internalisation du virus (**Johnson et al., 2009 ; Joyce et al., 1999 ; Patterson et al., 2005**).

Suite à cet attachement initial, de nombreuses modifications structurales discrètes de la cellule cible sont notées. De plus, un changement conformationnel critique expose l'extrémité aminoterminal de L2, qui est initialement enfouie dans la capsid qui contient un site de clivage furine / proprotéine convertase, qui est conservé parmi la plupart des HPV. In vitro, ce site est clivé par protéolyse à la surface de la cellule et le clivage est essentiel au succès de l'infection. Il est important de noter que ces événements précoces se sont produits sur la membrane basale extracellulaire (BM) dans le modèle murin cervico-vaginal d'infection à HPV-16 (**Patricia.M.Day et al., 2013**).

L'internalisation des particules virales se fait ensuite de manière lente grâce à un mécanisme dépendant de l'endocytose par la voie des clathrines pour HPV-16 (**Culp and Christensen, 2004 ; Day et al., 2003**).

Il faut savoir que ce mécanisme ne dépend pas de tous les types de HPV, car certains ne l'emploient pas. Le transfert de l'ADN viral au noyau est alors facilité par la protéine mineure de la capsid L2 et par le démantèlement des ponts disulfures intra-capsomérique dans l'environnement réducteur de la cellule (**Li et al., 1998**).

B. Phase de maintenance

Suite à l'endocytose des particules virales au sein des épithélia, 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 (**Wilson et al., 2002**). 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.

Le recrutement de E1 au niveau de l'origine virale va être dépendant de la liaison préalable de la protéine E2. Suite à cette interaction, E1 va lier les protéines cellulaires nécessaires à la réplication.

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. Exprimées à partir du promoteur précoce, les protéines E1 et E2 participent ainsi au contrôle du nombre de copies du génome viral dans les cellules différenciées (**Dell *et al.*, 2003**).

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 (**Doorbar, 2005**).

Dans les épithélia 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. Le mécanisme par lequel les papillomavirus stimulent la progression du cycle cellulaire est bien connu et est similaire à d'autres virus tumorigènes (**Sherman *et al.*, 1997**).

D. Phase d'amplification

Lorsque les cellules infectées par les HPV quittent la couche basale pour migrer progressivement vers la surface de l'épithélium, elles se différencient. Ainsi, l'expression des gènes viraux tardifs et l'activation de la phase productive sont dépendantes de la différenciation épithéliale. En réponse à cette différenciation, le promoteur tardif P670 situé dans l'ORF d'E7 est activé et va induire de hauts niveaux de synthèse des protéines virales E1, E2, E1[^]E4, E4 et E5, sans affecter l'expression des protéines E6 et E7 nécessaires à l'entrée en phase S du cycle cellulaire. Le nombre de copies virales va ainsi passer d'une centaine de copies à plusieurs milliers de copies virales par cellule (**Nakahara *et al.*, 2002**).

E. Phase d'assemblage

E1[^]E4 et E5 semblent impliquées dans la régulation des gènes tardifs viraux L1 et L2 qui sont hautement immunogènes et qui ne sont donc exprimés que dans la couche épithéliale la plus différenciée. Ces protéines qui constituent spontanément une capsidie icosaédrique sont donc assemblées tardivement permettant la formation de virions complets infectieux. Les HPV n'étant pas des virus lytiques, les virions assemblés et matures sont libérés lors de la desquamation des cellules superficielles de l'épithélium (**Grassmann *et al.*, 1996 ; Middleton *et al.*, 2003**).

4.2 Intégration des HPV et Carcinogénèse

A. Intégration virale

L'intégration du génome des HPV dans celui de la cellule hôte est une étape cruciale, propre aux HPV-HR. Dans le cas de lésions évoluant vers un cancer, le génome de HPV passe le plus souvent d'une forme épisomale à une forme linéaire intégrée dans l'ADN de la cellule épithéliale hôte (**Monsénégo, 2007**).

Cette linéarisation du génome viral qui intervient généralement par la rupture des POL d'E1 et E2, ce qui induit une perte de l'activité répressive d'E2 et donc une forte augmentation

d'expression et de stabilité des transcrits E6/E7. L'intégration de l'ADN viral qui s'accompagne souvent de délétions des gènes viraux est probablement un évènement accidentel au cours du cycle de vie de l'HPV-HR : la capacité à produire de nouveaux virions devient alors impossible (Desaintes et Demeret, 1996 ; Woodman *et al.*, 2007 ; Ramanakumar *et al.*, 2010).

Les sites d'intégration sont distribués au hasard dans le génome de la cellule hôte avec malgré tout une certaine préférence pour des régions dites fragiles. Ainsi, par exemple, l'intégration peut survenir sur le chromosome 8q4 (région FRA8C) proche du locus du proto-oncogène c-myc (Ziegert *et al.*, 2003 ; Thorland *et al.*, 2000 ; Wentzensen *et al.*, 2004).

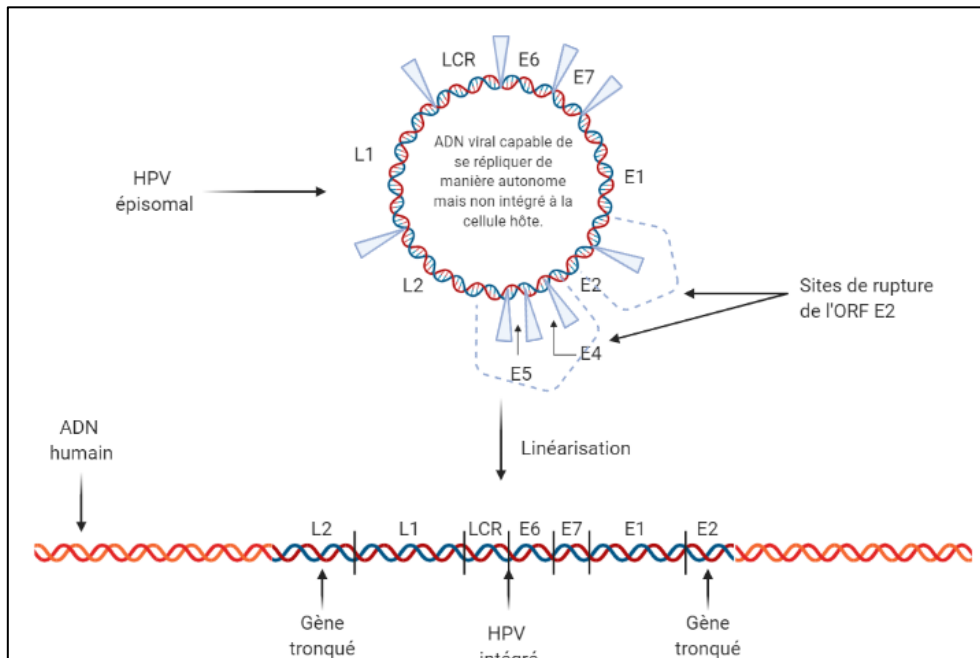


Figure 10 Intégration du génome du papillomavirus humain (image personnelle., 2020).

B. La carcinogénèse

Après l'intégration du génome viral au sein de la cellule hôte et à la perte d'expression d'E2, les oncoprotéines E6 et E7 vont être fortement exprimées et vont jouer des rôles clé dans le processus de carcinogénèse.

➤ L'oncoprotéine E6

E6 est une protéine composée de 150 acides aminés et qui possède quatre motifs Cys-X-X-Cys qui forment deux domaines de liaison au zinc, elle a la propriété d'interagir avec la protéine suppresseur de tumeur p53. Cette protéine fonctionne comme un intégrateur de signaux et peut percevoir un stress cellulaire tel que des agressions génotoxiques ou cytotoxiques. La protéine p53 est notamment impliquée dans la réponse aux lésions de l'ADN et retarde la progression du cycle cellulaire dont l'ADN est altéré afin de permettre sa réparation. Si les lésions sont irréversibles, la protéine p53 peut initier la voie apoptotique conduisant à la mort cellulaire. E6 favorise la dégradation de p53, ce qui stimule la progression du cycle cellulaire (Aubin *et al.*, 2003).

La dégradation de p53 se déroule à travers la formation du complexe E6/E6AP/p53 au sein duquel E6AP ubiquitine p53 et la cible pour être dégradée par le protéasome 26S (**Li et Coffino, 1996 ; Zanier *et al.*, 2005 ; Beaudenon et Huibregtse, 2008**).

- Sous l'influence d'E6 d'HPV-HR et E6AP, la protéine p53 dégradé ne pourra plus jouer son rôle proapoptotique. Suite à des dommages de l'ADN et le cycle cellulaire peut se poursuivre.
- Une des fonctions les plus importantes d'E6 des HPV-HR dans l'immortalisation des cellules est d'activer l'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase : hTERT (human Telomerase Reverse Transcriptase). Dans des cellules normales, les télomères se réduisent à chaque division cellulaire ce qui limite le nombre de divisions cellulaires. Cependant, dans les cellules HPV positives, la réactivation de la télomérase permet de maintenir des télomères intacts (**Klingelutz *et al.*, 1996 ; Liu *et al.*, 2009**).

➤ L'oncoprotéine E7

E7 est une protéine composée de 100 acides aminés (**Münger and Howley, 2002**) divisée en trois régions conservées : CR1, CR2 et CR3. La principale protéine cible d'E7 correspond à la protéine pRb qui est un suppresseur de tumeur et qui joue un rôle dans la réplication et la réparation de l'ADN.

La pRb est une protéine active sous sa forme non phosphorylée qui peut ainsi interagir avec le facteur de transcription E2F et réprimer la transcription des gènes cibles d'E2F nécessaires pour cette entrée en phase S.

Dans les cellules non infectées en fin de phase G1, les complexes cycline D1/CDK4 et cycline E/CDK2 ont pour rôle de phosphoryler pRb, induisant ainsi sa dissociation avec E2F pour activer la transcription des gènes spécifiques de la phase S et permettre la progression normale du cycle cellulaire en phase S (**Chellappan *et al.*, 1992 ; Stevaux et Dyson, 2002**).

Lors d'une infection à HPV-HR, E7 se lie à pRb non phosphorylée et empêche l'interaction pRb/E2F, d'où une perte de contrôle de la transition G1/S. La libération du facteur E2F lui permet d'être constitutivement actif : la transcription des gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire n'est plus contrôlée, la prolifération cellulaire est continue et l'apoptose est inhibée (**Dyson, 1998**). Après le complexe cycline 2 ubiquitine ligase se lie à E7/pRb pour ubiquitiner la protéine pRb qui sera inactivée puis dégradée par la voie du protéasome (**Boyer *et al.*, 1996 ; Huh *et al.*, 2007 ; Moody et Laimins, 2010 ; Münger *et al.*, 2004**).

C. Immortalisation et transformation cellulaire par l'action simultanée d'E6 et E7

Dans les cellules de carcinomes cervicaux, les oncoprotéines E6 et E7 d'HPV-HR ont un effet en continu sur la prolifération cellulaire et leurs actions respectives sont simultanées et complémentaires pour renforcer l'efficacité d'immortalisation et de transformation des cellules HPV positives. La dissociation du complexe pRb/E2F par E7 induit une prolifération cellulaire aberrante. Cette prolifération est renforcée par la dégradation de p53 induite par E6, inhibant ainsi l'apoptose. La réactivation de la sous-unité catalytique de la télomérase, hTERT, par E6 induit une immortalisation des cellules. Finalement, la coopération entre E6 et E7 va permettre d'induire un nombre de centrosomes anormaux, la formation d'un fuseau mitotique aberrant et une instabilité génomique menant à la transformation cellulaire.

4.3 Latence virale

La latence virale peut être définie comme la présence d'un faible nombre de copies d'ADN viral en l'absence de production de virions dépendante de la différenciation. Dans la plupart des cas, le système immunitaire va pouvoir contrôler une infection à HPV pour que celle-ci reste latente. Le maintien du génome viral en état de latence nécessiterait uniquement l'expression des protéines virales E1 et E2. Une infection virale latente peut être réactivée suite à une immunodépression (**Zhang *et al.*, 1999 ; Broker *et al.*, 2001 ; Chow *et al.*, 2010 ; Gravitt, 2011**).

Chapitre 03 : Étude moléculaire

1. Structure des papillomavirus humains

Les papillomavirus sont des petits virus à ADN (45 à 55 nm de diamètre) non enveloppés, avec une capsidie d'une symétrie icosaédrique composée de 72 capsomères, de la famille des *Papillomaviridae*. (Duport, 2008).

Ce sont des virus très résistants aux conditions environnementales, et physicochimiques, à savoir le froid, les solvants organiques et les détergents. Ils sont particulièrement peu sensibles à la chaleur ou encore au chlore utilisé dans les piscines. Les HPV sont des virus ubiquitaires, très anciens et très stables, et qui ont évolués avec leurs hôtes respectifs (Coursaget and Touze, 2006). Ils sont épithéliotropes et infectent les épithéliums cutanés et muqueux (Monsénégo, 2007).

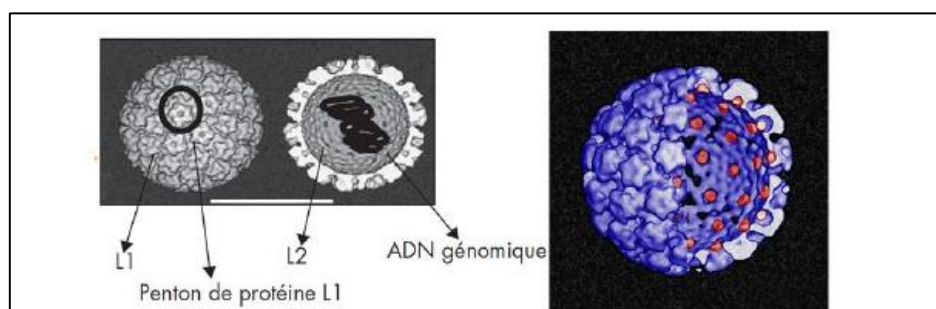


Figure 11 Organisation de la capsidie d'un virion de HPV-16, avec un arrachement révélant la protéine L2 (rouge) de la capsidie associée à la surface intérieure de la protéine L1 (bleu).

2. Organisation génomique

Le génome viral consiste à une molécule ADN double brin circulaire, super-enroulé, de 8 000 paires de bases environ (Mougins *et al.*, 2000) avec huit cadres de lecture ouverts (ORF) bien définis, qui sont tous transcrits à partir du même brin d'ADN (Lowe *et al.*, 2008). Trois régions peuvent être individualisées au sein du génome.

- La région précoce ;
- La région tardive ;
- Et la région régulatrice LCR.

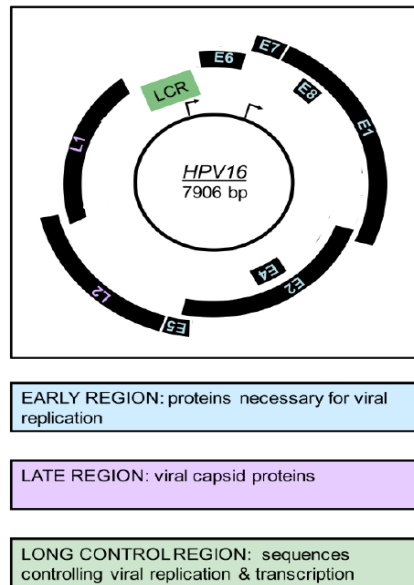


Figure 12 Représentation des protéines virales des différentes régions.

2.1 Les protéines de la région précoce

Codant pour les six gènes (E1, E2, E4, E5, E6, E7) non structurels impliqués dans de multiples fonctions, y compris la réplication virale et la transformation cellulaire (**Bravo et Féliz-Sanchez., 2015**), occupe plus de 50% du génome de virus (**Zheng et Baker, 2006**).

La première région contient 7 cadres de lecture ouvert (ORF) qui codent pour des protéines virales régulatrices non structurales, alors que la deuxième région code pour les protéines de la capsid. La troisième région ne code pour aucune protéine virale, mais elle contient l'origine de la réplication de l'ADN ainsi que la séquence de contrôle de la transcription.

Tableau IV Propriétés biologique des protéines de HPV-HR (Fetouhi et Zermane., 2019)

Protéines	Fonctions
E1	ADN hélicase dépendant de l'ATP, est la seule enzyme codée par les papillomavirus (PV) qui doit s'assembler à l'origine pour être actif dans la réplication de l'ADN. Il est nécessaire tout au long du cycle de réplication virale pour : <ul style="list-style-type: none"> • Augmenter le nombre de copies de l'épisome viral lors de l'infection des kératinocytes basaux. • Maintenir un niveau constant d'épisomes dans les cellules qui migrent vers le haut de l'épithélium et commencent à se différencier. • Promouvoir l'amplification du génome viral au cours de la phase productive du cycle de vie du virus qui se déroule dans les couches épithéliales différenciées (Bergvall et al., 2013).
E2	Sont des protéines multifonctionnelles qui interviennent dans de nombreux processus viraux, principalement associées à l'initiation de la réplication de l'ADN viral en chargeant l'hélicase E1 sur l'origine de la réplication, et à l'activation ou la répression de la transcription du génome viral. Ils sont exprimés aux stades précoces et intermédiaires du cycle de vie viral (McBride, 2013).
E4	Est synthétisée sous la forme d'une protéine de fusion E1 ^ E4 à partir d'un ARNm épissé qui comprend le codon d'initiation E1 et les séquences adjacentes (Doorbar J.2013). Elle est contrôlée par le promoteur P670 et diminue au fur et à mesure que les lésions précancéreuses évoluent vers un cancer (Middleton et al., 2003). Cette protéine facilite l'encapsidation du génome et la maturation des virions et est capable de dégrader les cytokératines ce qui favorise la libération des virions dans l'environnement (Peh et al., 2002).
E5	Est une protéine transmembranaire associée à l'appareil de Golgi, au réticulum endoplasmique et aux membranes plasmiques. Elle peut coopérer avec l'oncoprotéines E7, E6 pour stimuler la prolifération cellulaire et permettre au HPV d'immortaliser et de transformer les kératinocytes (Allie K et al, 2014).
E6	Sont des oncoprotéines d'environ 150 acides aminés et contiennent deux motifs à doigts de zinc (Fiamma et Lawrence ,2001). Elle forme un complexe trimérique avec les protéines associées à E6 (E6AP) et p53, ce qui entraîne la dégradation de p53 (Scheffner et al., 1993, Liyan et Zhi-Xiang 2015).
E7	Est une oncoprotéine composée d'environ 100 acides aminés (Münger and Howley, 2002). Elle cible les protéines de la famille pRb en vue de leur dégradation, inhibant ainsi la répression des gènes sensibles à E2F induite par pRb (Liyan et Zhi-Xiang 2015).

2.2 Les protéines de la région tardive

Cette région couvre environ 40% du génome viral en aval de la région précoce et code pour les protéines de capsid L1 et L2 qui s'autoassemblent pour donner le virion (**Zheng et Baker, 2006**).

Tableau V Propriétés biologique des protéines de la capsid de HPV-HR (Fetouhi et Zermane., 2019)

Protéines	Fonctions
L1	C'est la protéine majeure de la capsid d'environ 55 kD, elle forme la majorité de la capsid et peut s'auto-assembler en particules de type virus (VLP) vides, qui sont à la base des vaccins HPV homologués (Wang et Roden, 2013).
L2	Est un composant mineur de la capsid à une masse moléculaire d'environ 55 kD, il co-assemble avec L1 dans des VLP pour assurer la stabilisation de la capsid, elle joue un rôle dans l'encapsidation du génome, dans l'échappement des virions face au système endosomal et le transport du génome d'HPV au sein du noyau (Wang et Roden, 2013).

2.3 Les protéines de la région régulatrice LCR

Cette région est adjacente à l'ORF de l'oncoprotéine E6, elle ne code pour aucune protéine mais elle contient le promoteur des gènes précoces P97, ainsi que des sites de liaison au facteur de transcription. Elle joue un rôle important dans la régulation de la réplication de l'ADN viral.

Concernant sa localisation exacte, elle se trouve entre les séquences POL L1 et POL E6/E7 (**Zheng et Baker, 2006**).

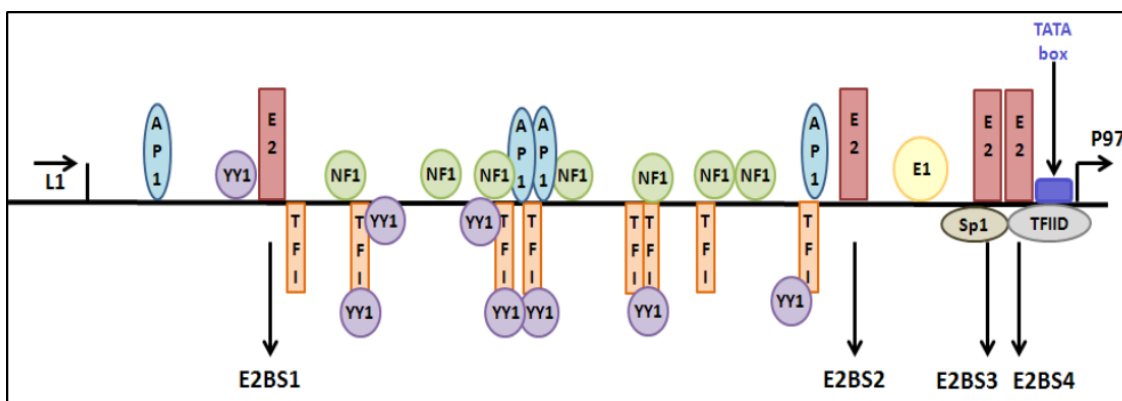


Figure 13 Schéma de la LCR d'HPV16 présentant les sites de liaison des facteurs de transcription TFIID, Sp1, YY1, AP1, NF1, TFI, le site d'interaction de E1 avec l'origine de réplication virale et les quatre sites de liaison à E2 (**Snellenberg et al., 2012**).

2.4 Promoteurs viraux

Le génome d'HPV possède 2 promoteurs principaux :

- **Le promoteur P97** situé dans le LCR en amont du gène E6, responsable de la synthèse de presque tous les gènes précoces (**Smotkin et Wettstein, 1986**). Il est régulé par la fixation de la protéine virale E2 et de nombreuses protéines cellulaires (**Bernard, 2002**).
- **Le promoteur P670** situé dans la POL d'E7, responsable de la synthèse des gènes tardifs L1 et L2. De plus, les transcrits initiés par P670 sont potentiellement codants pour la protéine de fusion E1^E4 et la protéine E5 (**Grassmann et al., 1996**).

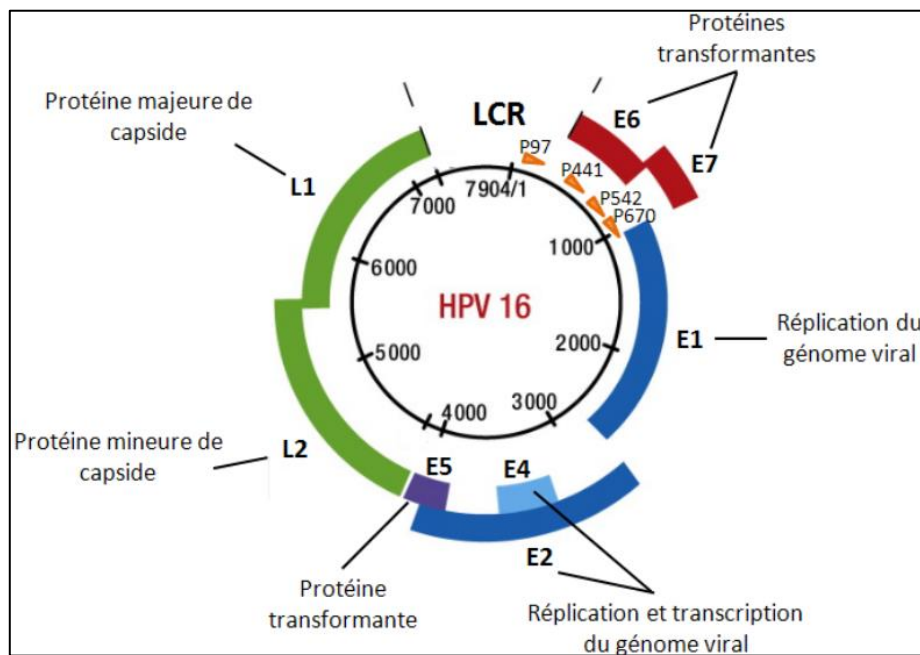


Figure 14 Représentation schématique du génome d'HPV : exemple d'HPV16 (Mougins et al., 2009).

Chapitre 04 :

Généralités sur la bio-

informatique

1. Généralités et historique sur la bio-informatique

La bio-informatique est une science multidisciplinaire qui implique l'utilisation de nombreux outils différents tels que la biologie moléculaire, l'informatique, les mathématiques ou les statistiques ... et ce en vue d'obtenir des résultats et des réponses à des problèmes biologiques.

En d'autres termes, la bio-informatique est une science de recherche qui analyse et interprète des données biologiques, au moyen de méthodes informatiques, afin de créer de nouvelles connaissances en biologie.

Cette nouvelle discipline constitue la « *biologie in silico* », par analogie avec *in vitro* ou *in vivo*. Elle implique plusieurs applications informatiques au service de la biologie, telles que :

- L'analyse du génome
- La modélisation de l'évolution d'une population animale,
- La modélisation moléculaire,
- L'analyse d'image,
- Le séquençage du génome,
- La reconstruction d'arbres phylogénétiques (phylogénie)... (**Matthieu Basseur, 2014**).

La bio-informatique est une science nouvelle qui est passée par de nombreuses étapes pour arriver à ce qu'elle est à ce jour. Son développement s'est fait progressivement, avec un début dans le domaine dans les années 1965, où a été faite la première compilation de protéines. Mais ce n'est qu'en 1980 que cette science a su faire ses preuves grâce à la création de bases de données telles que EMBL, GenBank et PIR.

Le tableau suivant permet de retracer l'histoire de la bio-informatique, avec les événements les plus importants.

Tableau VI Historique et évolution de la bio-informatique (*bioinfo.*, 2020).

Année	Accomplissement
1965	Première compilation de protéines (Atlas of Protein Sequences) : Margaret Dayhoff <i>et al.</i>
1970	Algorithme pour l'alignement global de séquences : Needleman & Wunsch
1980	Mutagenèse dirigée : Michael Smith, Séquençage du premier génome à ADN, le bactériophage phiX174 : F. Sanger. Premières bases de données : EMBL, GenBank, PIR.
1985	"FASTA" : Programme d'alignement local de séquences – Pearson & Lipman.
1990	Clonage positionnel et premier essai de thérapie génique. "BLAST" : Programme d'alignement local de séquences – Altschul <i>et al.</i>
1996	Séquençage complet de la levure (Consortium Européen).
2000	Séquençage du premier génome de plante : <i>Arabidopsis thaliana</i> .
2010	Création de la première bactérie synthétique, contrôlée par un génome synthétisé chimiquement (Science 2 July 2010 : 40-41).
Septembre 2013	Nombre de génomes séquencés 6880. Nombre de génomes en cours : 21058.
Avril 2014	Plus de 776.000.000.000 nucléotides séquencés.
Décembre 2015	Plus de 18.900 génomes eucaryotes et procaryotes séquencés et des milliers en projet. Plus de 1.363.000.000.000 nucléotides séquencés.

2. Généralités sur les outils utilisés en bio-informatique

Comme le décrit très bien **Jean-Michel Claverie** : "*La bio-informatique est constituée par l'ensemble des concepts et des techniques nécessaires à l'interprétation de l'information génétique (séquences) et structurale (repliement 3-D). C'est le décryptage de la "bio-information" ("Computational Biology" en anglais). La bio-informatique est donc une branche théorique de la Biologie. Son but, comme tout volet théorique d'une discipline, est d'effectuer la synthèse des données disponibles (à l'aide de modèles et de théories), d'énoncer des hypothèses généralisatrices (ex. : comment les protéines se replient ou comment les espèces évoluent), et de formuler des prédictions (ex. : localiser ou prédire la fonction d'un gène)*".

Pour aboutir à la formulation de ces modèles et à ces prédictions, il est indispensable de tout d'abord collecter et organiser les données à travers la création de bases de données.

Cependant, outre les bases de données, il est également nécessaire de faire usage de nombreux outils pour l'analyse de certaines données, ou pour l'obtention de résultats concluants concernant des études spécifiques. Parmi ces outils, il y a :

➤ **NCBI (National Center for Biology Information)**

C'est une base de données très populaire, aussi appelée "*Genome Browsers*". Elle permet d'avoir accès à de nombreuses données, mais qu'elle ne génère pas. Elle dépend donc d'autres centres ou laboratoires de recherche qui eux les produisent.

➤ **GenBank**

C'est la base de données des séquences génétiques de NIH, elle permet aux chercheurs d'accéder à toute une collection de séquences d'ADN (**Nucleic Acids Research, 2013**).

Genbank fait partie de la collaboration internationale sur la base de données de séquences nucléotidiques, l'European Nucleotide Archive (ENA) et le Centre national pour l'information biotechnologique (NCBI) qui sont trois organismes qui échangent des données à fréquence quotidienne (**Nih.gov., 2013**).

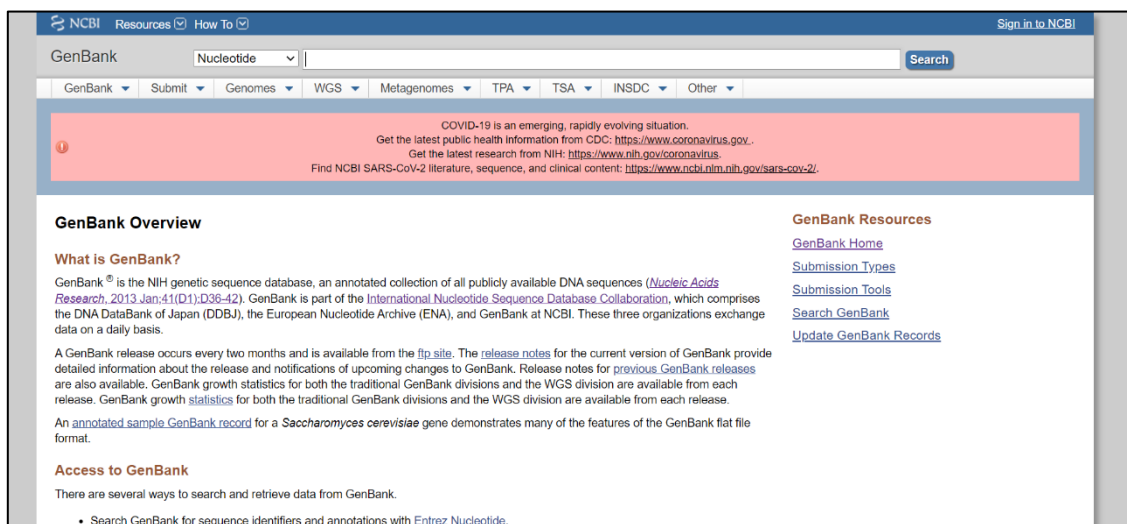


Figure 15 Page d'accueil de GenBank (image personnelle., 2020).

➤ **BLAST (Basic Local Alignment Search Tools)**

C'est un outil informatique permettant de faire la comparaison entre des séquences protéiques ou nucléotidiques et des séquences de la base de données afin de calculer la signification statistique. Cet outil permet également de trouver des similitudes entre des séquences biologiques (**Nih.gov., 2020**).

- **BLASTn** : Alignement entre des séquences nucléotidiques.
- **BLASTp** : Alignement entre des séquences protéiques.
- **BLASTx** : Alignement d'une séquence nucléotidique "traduite" contre les séquences nucléotidiques "traduites" de la banque.

➤ **Swiss model**

C'est un serveur web de bio-informatique structurale dédié à la modélisation homologue des structures protéiques 3D (**SWISS-MODEL, 2003**).

Chapitre 05 : Matériel et méthodes

1. Étude rétrospective

L'objectif de la présente étude porte sur l'évaluation des activités de dépistage du cancer du col utérin et des lésions précancéreuses au niveau de la wilaya de Tipaza.

La distribution de la population féminine révélant de différentes unités de cytodiagnostics de la wilaya de Tipaza à savoir :

- Unité de Ben Azzouz (Koléa).
- Unité de Sidi Rached.
- Unité de Cherchell.
- Unité de Sidi Ghiles.
- Unité de Koléa.

Chaque prélèvement est accompagné d'un document comprenant des renseignements personnels et cliniques et de deux lames portant un matériel biologique prélevé au niveau l'exocol et l'endocol, ces dernières seront adressées au laboratoire de cytologie, où ces documents seront étiquetés et gravés.

1.1 Matériels

A. Matériels utilisés dans le laboratoire de cytologie

L'étude cytologique des frottis cervicaux vaginaux nécessite un matériel spécial, et des éléments préanalytique, et toute une procédure pour obtenir un frottis prêt à analyser.

- **Matériels non biologiques**
 - Le crayon à diamant.
 - Un portoir des lames.
 - Une batterie.
 - L'Eukitt, une lamelle et le pince.
 - Microscope optique. Réactifs : L'hématoxyline de Harris, l'Orange G (OG 6), l'Eosine-Azur (EA 50), Xylène, alcool chirurgical à des différentes concentrations.
- **Matériel biologique**
 - Des patientes adressées aux différents centres de prélèvement.

B. Matériels utilisés dans le laboratoire de l'anatomie pathologie

- **Matériels non biologiques**
 - La hotte.
 - Appareil automate.
 - Appareil d'enrobage.
 - Congélateur.
 - Microtome.
 - Appareil de coloration.
 - Microscope.

- **Matériels biologiques**
 - Tissus biologiques

1.2 Méthodes

A. Protocole de l'étude cytologique

1. **Gravage** : il se fait à l'aide d'un crayon à diamant.

2. La coloration de Papanicolaou

- **Principe** : La coloration Papanicolaou est une coloration polychrome qui permet de différencier les cellules en fonction de leur maturité et de leur activité métabolique. Elle est composée de trois colorants :
 - L'hématoxyline de Harris qui colore les noyaux des cellules grâce à son affinité avec l'ADN.
 - L'Orange G (OG 6), un colorant acide qui réagit avec les cellules squameuses matures de par son affinité avec la kératine.
 - L'Eosine-Azur (EA 50), un colorant acide polychrome (éosine) qui réagit avec le cytoplasme des cellules squameuses non matures (cellules basales et intermédiaires) ainsi qu'avec les cellules glandulaires et les hématies.

Cette coloration est spécifique pour les FCV, et elle a un grand intérêt dans le diagnostic précoce du cancer du col utérin et des lésions précancéreuses.

Les étapes de la coloration de Papanicolaou : elle se fait à l'aide d'une batterie, et consiste à faire :

- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 80° pendant 30s.
- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 70° pendant 30s.
- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 50° pendant 30s.
- Incuber dans l'eau distillée pendant 30s.
- Incuber dans Hématoxyline de Harris pendant 1 mn30s.
- Rinçage avec l'eau courante (élimination de l'excès du colorant).
- Incuber les lames dans l'eau distillée pendant 30s.
- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 50° pendant 30s.
- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 70° pendant 30s.
- Baigner les lames dans l'alcool éthylique à 80° pendant 30s.
- Incube les lames dans l'alcool éthylique à 95° pendant 30s.

Étape 2 :

- Incuber les lames dans EA50 durant 1mn 30s.
- Incuber les lames dans l'alcool éthylique à 95° pendant 30s.
- Incuber les lames dans l'alcool éthylique à 95 ° pendant 30s.
- Incuber les lames dans l'alcool absolu.
- Incuber les lames dans OG 06 durant 1mn.

3. **Montage** : il se fait à l'Eukitt entre lame et lamelle.

4. **La lecture** : à l'aide d'un microscope optique, le screneur rédige un compte rendu d'analyse et établit une conduite à tenir.

B. Protocole de biopsie

1. Réception des biopsies du col utérin dans des tubes à hémolyse qui sont fixés dans le formol 1/10. Inclure la biopsie dans des cassettes adaptées.
2. Passe la biopsie dans un appareil de la circulation de traitement du pré biopsie pas avant 6H de fixation.
3. Passe à inclusion à la paraffine.
4. Congeler les cassettes toute une nuit (-15) puis faire l'enrobage (des coupes histologiques) à l'aide d'un microtome à une épaisseur de 3à5 µm.
5. Déparaffine les lames dans l'étuve à 90 C° pendant 15 minutes puis passé à la coloration.
6. Laisser les lames dans bain de xylène pendant 15à30 minute puis faire le montage entre les lames et les lamelles avec l'Eukitte.
7. Finalement la lecture via une microscopie optique faite par le médecin pathologiste.

2. Étude bio-informatique

La présente étude a été menée dans le cadre de la préparation d'un projet de fin d'étude portant sur « la persistance du virus HPV de type 16 et 18 vers des lésions précancéreuses ». Elle a été menée durant l'année 2020.

L'objectif de notre étude bio-informatique est la comparaison du matériel génétique des protéines oncogènes E6 et E7 des deux types de papillomavirus humains HPV-16 et HPV-18. Cela est dû au fait que les deux types viraux possèdent des différences significatives, et ce sur les plans différents.

En effet, HPV-16 est généralement identifié chez 24 % des femmes infectées, alors que le HPV-18 n'est identifié que chez 9% des femmes infectées. Aussi, le HPV-16 est associé à plus 50 % des cas des cancers du col de l'utérus, tandis que le HPV-18 n'est associé qu'à environ 18 % de ces cas.

Pour nous aider à mieux comprendre ces différences, nous avons mené cette étude en utilisant les matériels et les méthodes suivants. Cela nous a menés aux résultats cités ci-dessous.

2.1 Matériels**A. Matériel informatique**

Cette étude a été réalisée grâce à :

- PC Toshiba Portégé avec un système d'exploitation Windows 10
- Connexion internet

B. Outils bio-informatiques

Pour effectuer la présente étude, nous avons utilisé les bases de données et les logiciels bio-informatiques suivants :

- **NCBI** : La première étape de cette étude consiste à télécharger les séquences protéiques de la base de données de NCBI nommée : « *Protein Database* ».

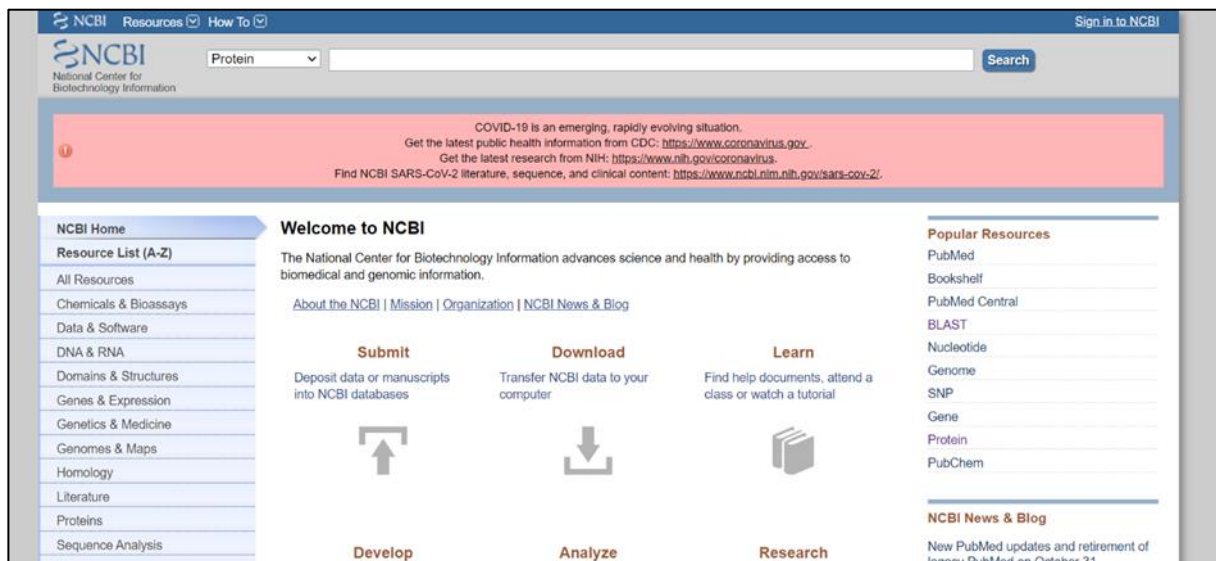


Figure 16 Page d'accueil de la base de données « *Protein Database* » de NCBI (image personnelle., 2020).

- **Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)** : pour l'alignement des séquences.

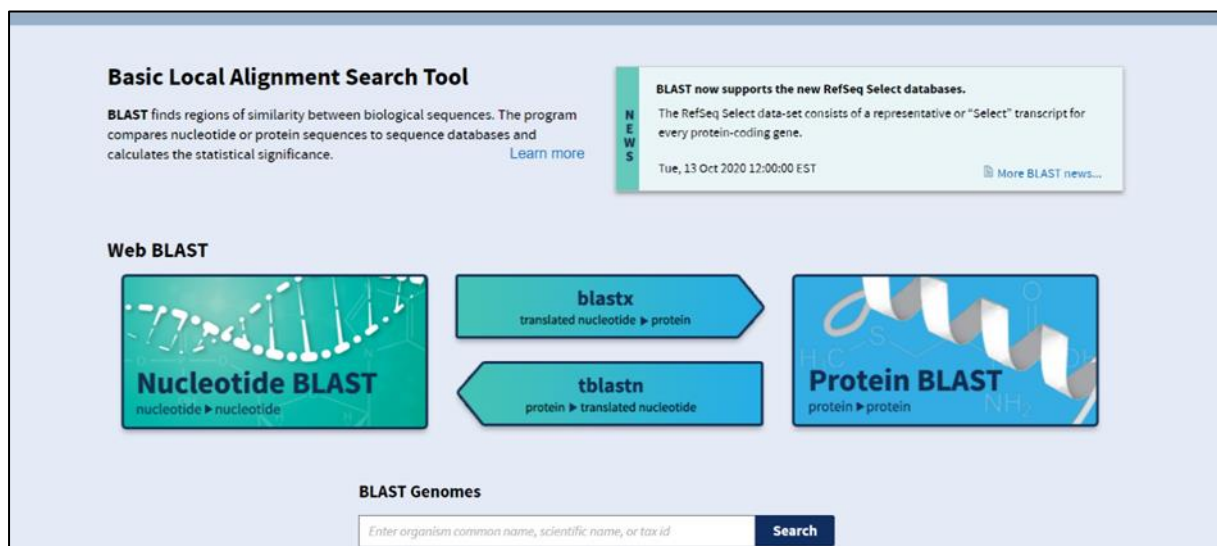


Figure 17 Page d'accueil de BLAST (image personnelle., 2020).

Grâce à ces outils de la bio-informatique, nous allons analyser différentes séquences protéiques de notre étude. Ces séquences concernent les virus Papillomavirus humains de type 16 et 18.

C. Les séquences protéiques à analyser

Dans cette étude, les séquences à analyser et à étudier sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau VII Séquences protéiques à analyser.

Séquence		Numéro d'accèsion sur NCBI
HPV 16	Oncoprotéine E6	AAD33252
	Oncoprotéine E7	AAD33253
HPV 18	Oncoprotéine E6	AGM34425
	Oncoprotéine E7	AGM34461

3.2 Méthodes

A. Téléchargement des séquences protéiques

Dans cette étude, nous avons privilégié le travail avec des séquences protéiques, car contrairement aux séquences nucléotidiques, elles sont beaucoup plus conservées.

Cela signifie en d'autres termes que les séquences nucléotidiques peuvent présenter de nombreuses mutations génétiques telles que des délétions, des substitutions, des insertions ... mais certaines de ces mutations sont silencieuses, elles n'ont donc aucun impact sur le devenir de la protéine.

Pour le téléchargement des séquences protéiques :

1. Nous utilisons le moteur de recherche NCBI (National Center for Biotechnology Information).
2. Nous lançons ensuite la recherche en entrant la requête dans la barre de recherche.
3. Sélectionner la base de données des protéines « *Protein Database* » pour lancer notre recherche.

Les étapes précédentes sont décrites dans la figure 17 :

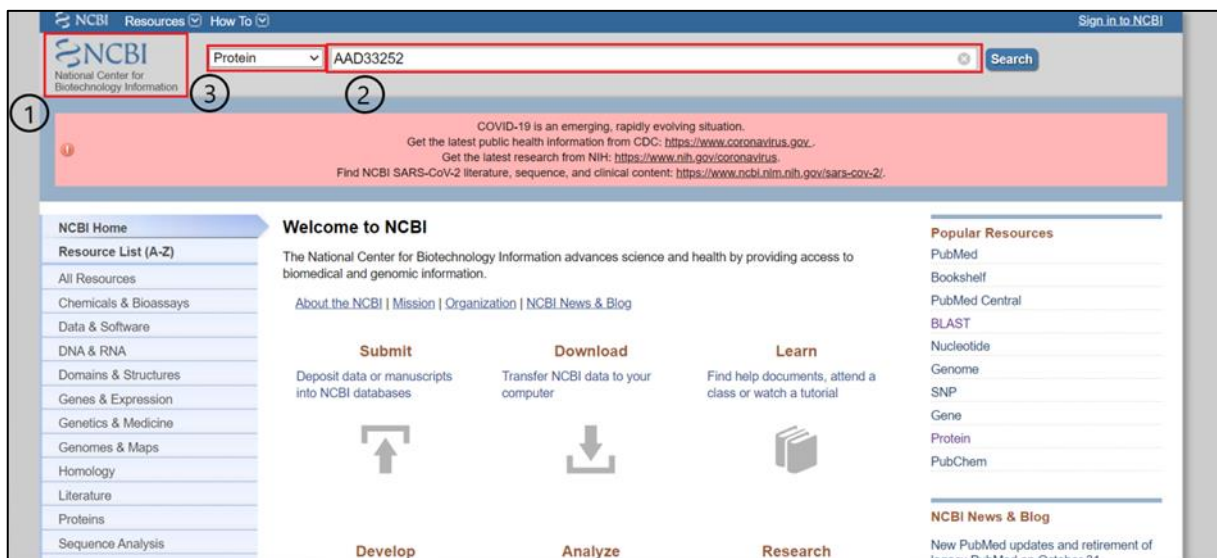


Figure 18 Utilisation de la base de données « *Protein Database* » de NCBI (image personnelle., 2020).

Une fois ceci complété, les résultats s'affichent, avec la possibilité d'obtenir et de télécharger la séquence protéique sous format **FASTA**. C'est un format de fichier texte utilisé pour stocker des séquences biologiques de nature nucléique ou protéique.

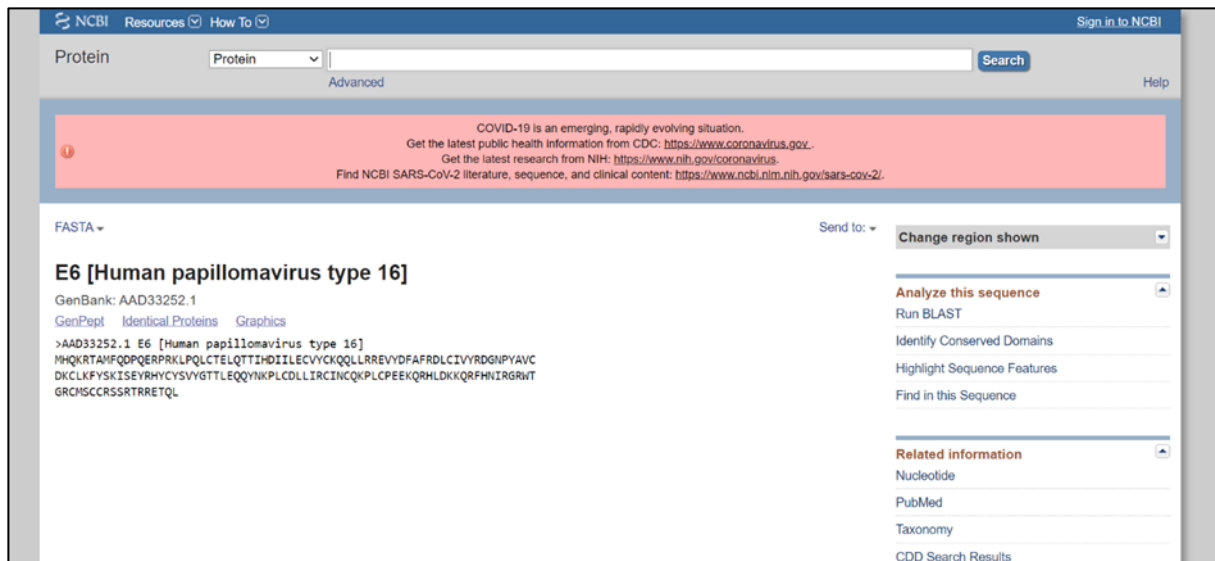


Figure 19 Format FASTA d'une séquence protéique (image personnelle., 2020).

Nous répétons l'opération pour chaque séquence protéique faisant l'objet de cette étude, c'est-à-dire les oncoprotéines E6 et E7 du papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18.

B. Utilisation de BLAST

BLASTp est la méthode utilisée ici, il nous permet de comparer entre deux séquences protéiques différentes.

Nous allons d'abord faire un alignement entre les oncoprotéines E6 des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18.

Ensuite, un alignement entre les oncoprotéines E7 des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18.

Pour cela nous nous rendons sur la plateforme de BLAST où nous choisissons "Protein BLAST". Nous suivons ensuite les étapes suivantes pour compléter l'alignement :

1. On coche le bouton "Align two or more sequences" qui permet de comparer entre deux séquences protéiques ;
2. On insère la première séquence protéique dans le champ adéquat ;
3. On insère la seconde séquence protéique dans le deuxième champ disponible ;
4. On lance le BLAST.

Ces étapes sont décrites dans les figures suivantes.

The screenshot shows the NCBI BLAST interface for protein alignment. The title is "Align Sequences Protein BLAST". The interface is divided into several sections:

- Query Section:** Labeled "Enter Query Sequence" with a circled 2. It contains a text area for "Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)" with a "Clear" button and a "Query subrange" dropdown. Below this is an "Or, upload file" button and a "Job Title" field.
- Subject Section:** Labeled "Enter Subject Sequence" with a circled 3. It contains a text area for "Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)" with a "Clear" button and a "Subject subrange" dropdown. Below this is an "Or, upload file" button.
- Program Selection:** Labeled "Program Selection" with a circled 4. It shows the "Algorithm" dropdown set to "blastp (protein-protein BLAST)".
- Buttons:** A "BLAST" button (circled 4) and a checkbox for "Show results in a new window".
- Options:** A checkbox "Align two or more sequences" (circled 1) is checked.

Figure 20 Utilisation de BLAST (image personnelle., 2020).

Les résultats de BLAST se présentent comme suit dans le tableau VII :

Tableau VIII Les résultats de BLAST.

Résultat	Rôle	Description														
<p>Job Title AAD33252.1 E6 [Human papillomavirus type 16]</p> <p>RID T315BVTCT114 Search expires on 10-23 21:10 pm Download All ▾</p> <p>Program Blast 2 sequences Citation ▾</p> <p>Query ID lcl Query_40803 (amino acid)</p> <p>Query Descr AAD33252.1 E6 [Human papillomavirus type 16]</p> <p>Query Length 158</p> <p>Subject ID lcl Query_40805 (amino acid)</p> <p>Subject Descr AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]</p> <p>Subject Length 145</p> <p>Other reports Multiple alignment MSA viewer ?</p>	Récapitulatif de la requête	<ul style="list-style-type: none"> Query : séquence soumise. Database name : banque interrogée. 														
<p>Distribution of the top 1 Blast Hits on 1 subject sequences</p>	Représentation graphique des résultats	<p>Les traits de couleur correspondent à un alignement entre les deux séquences.</p> <ul style="list-style-type: none"> La couleur correspond au score. La longueur correspond à la taille de l'alignement. 														
	Dot Matrix View.	Montre des régions de similarité basées sur les résultats BLAST.														
<p><input checked="" type="checkbox"/> select all 2 sequences selected</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Description</th> <th>Size</th> <th>Info</th> <th>Query</th> <th>E</th> <th>Pos</th> <th>Accession</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]</td> <td>155</td> <td>155</td> <td>61%</td> <td>4e-54</td> <td>58.1%</td> <td>Query_40805</td> </tr> </tbody> </table>	Description	Size	Info	Query	E	Pos	Accession	AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]	155	155	61%	4e-54	58.1%	Query_40805	Représentation globale des résultats.	<ul style="list-style-type: none"> Chaque ligne correspond à trait coloré de la représentation graphique On trouve dans ce tableau : le score, l'E-value.
Description	Size	Info	Query	E	Pos	Accession										
AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]	155	155	61%	4e-54	58.1%	Query_40805										
<p>AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]</p> <p>Sequence ID: Query_40805 Length: 145 Number of Matches: 1</p> <p>Range 1: 1 to 129 Graphics Next Match Previous Match</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Score</th> <th>Expect</th> <th>Method</th> <th>Identities</th> <th>Positives</th> <th>Gaps</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>155 bits(391)</td> <td>4e-54</td> <td>Compositional matrix adjust.</td> <td>75/129(58%)</td> <td>94/129(72%)</td> <td>0/129(0%)</td> </tr> </tbody> </table> <p>Query 19 LPQLCTELQTTIHDIIELEVYCKQQLLREVDFAFRDLCEVYRDGNPVAVCDKCKFYV 78 LP LCTEL T++ DI + CVYCK L EV++FAF+DL +VYRD P+A C KC+ FYV Sbjct 1 LPDLCTELNTSLQDIEITCVYCKTVLELTVFVFAFDL FVYVRSI PHAACHKCIDFYV 60</p> <p>Query 79 KISEYRHYCVSYVGTTEQQVYKPLCDLLIRCNICQKPLCPEEKQRHLQKQRFHNIQR 138 +I E R+Y SVVG TLE+ N L +LLIRC+ CQKPL P EK RHL++K+RFH I G Sbjct 61 RIRELYSDSYVGDTELEKLTNTGLYNLLIRLRCQKPLNPAEKLRHLNEKRRFHKIAGH 120</p> <p>Query 139 WTGRMCSCC 147 + G+G SCC Sbjct 121 YRQCHSCC 129</p>	Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	155 bits(391)	4e-54	Compositional matrix adjust.	75/129(58%)	94/129(72%)	0/129(0%)	Description des résultats des alignements.	Les grandeurs propres à chaque alignement (score, E-value, % d'identité, % positif, % de gap)		
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps											
155 bits(391)	4e-54	Compositional matrix adjust.	75/129(58%)	94/129(72%)	0/129(0%)											

Chapitre 06 : Résultats et interprétation

1. Étude rétrospective

A. Résultats de la prévalence du virus HPV au niveau de la wilaya de Tipaza

Les résultats de la prévalence du virus HPV au sein de notre échantillon ont été étudiés en fonction de la répartition par unité, facteurs de risque ainsi que les lésions associées sur un plan cytologique.

A.1 Prévalence de nombre HPV par unité

La figure 21 représente la prévalence des patientes, dont le test HPV est positif au sein des différentes unités d'étude comme suit :

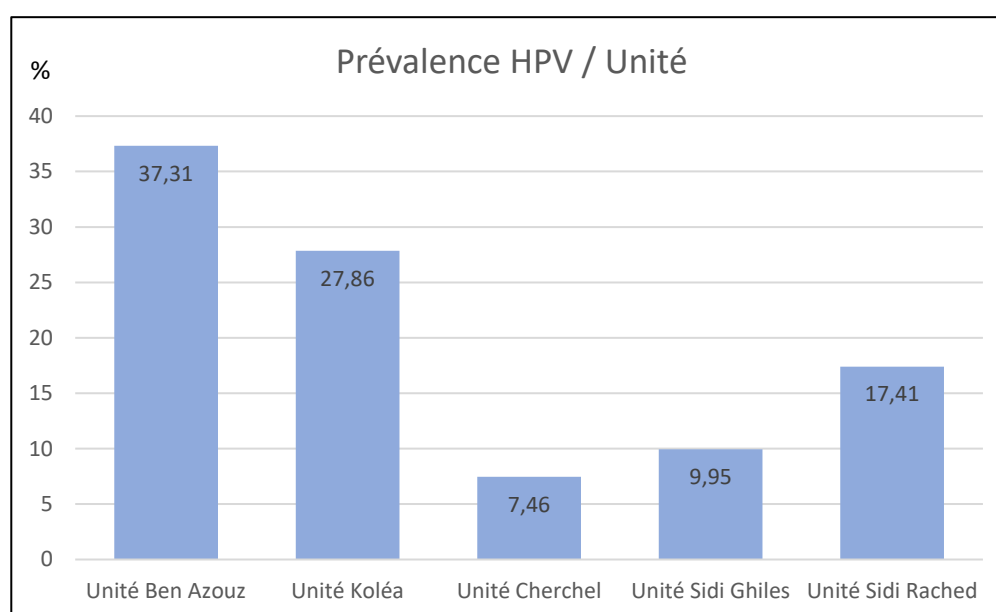


Figure 21 Répartition de la prévalence du virus HPV dans différentes unités dans la wilaya de Tipaza durant l'année 2019-2020.

Ainsi, la figure nous montre un pourcentage de 37,31% dans l'unité de Ben Azouz, qui est le plus élevé par rapport aux autres unités, suivi par l'unité de Koléa avec 27,86 % et on a constaté que l'unité de Cherchell est représentée par un taux très bas de 7,46%.

A.2 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de la tranche d'âge

La figure 22 représente le pourcentage du nombre de frottis des patientes selon l'âge.

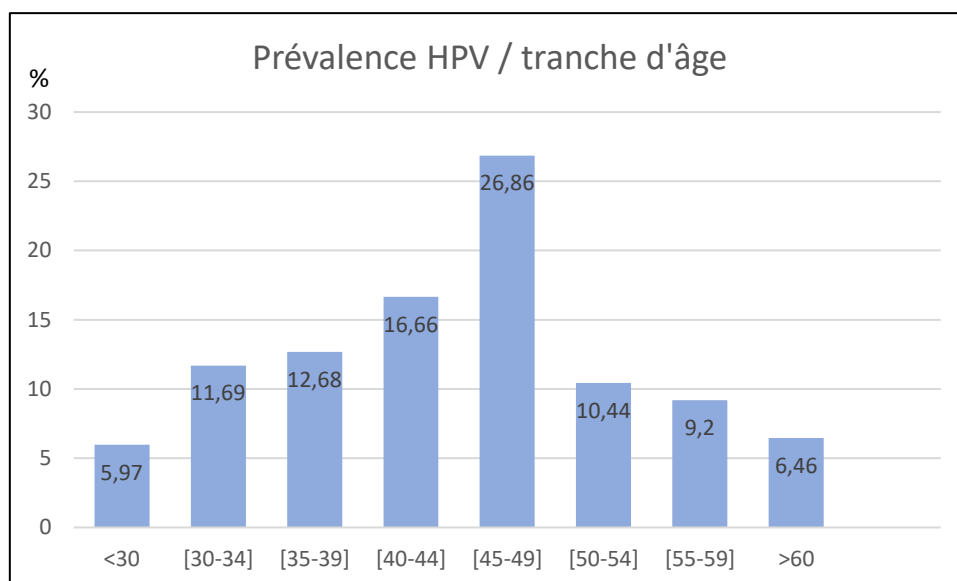


Figure 22 Pourcentage des nombres de frottis selon la tranche d'âge.

Le résultat de répartition de nombre de frottis selon la tranche d'âge donne une valeur maximale pour la tranche d'âge de [45- 49] ans avec un pourcentage de 26,86% suivi par la tranche d'âge de [40-44] ans avec 16,66%, et enfin, le plus bas taux enregistré était de 5,97% pour la tranche d'âge <30 ans.

A.3 Pourcentage des nombres de frottis en fonction des unités

La figure 23 représente le pourcentage du nombre de frottis des patientes en fonction des unités.

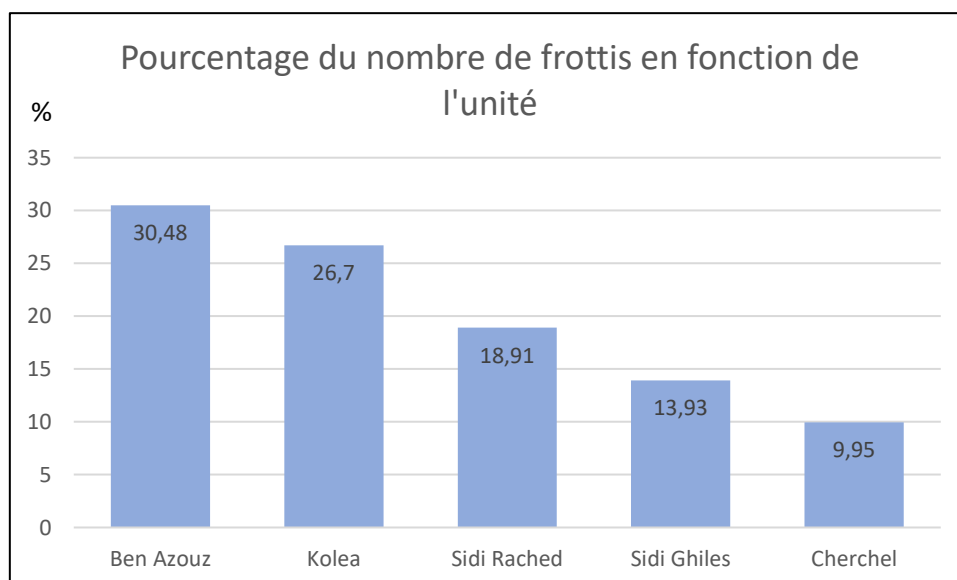


Figure 23 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de l'unité.

Le résultat montre un pourcentage de 30,48% dans l'unité de Ben Azouz, qui est le plus élevé par rapport aux autres unités, suivi par l'unité de Koléa avec 26,7 %. L'unité de Cherrhell est représentée avec un taux très bas donné avec un pourcentage de 9,95%.

A.4 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de la tranche d'âge

La figure 24 représente le nombre de frottis des patientes admises aux différentes unités de notre étude selon l'âge.

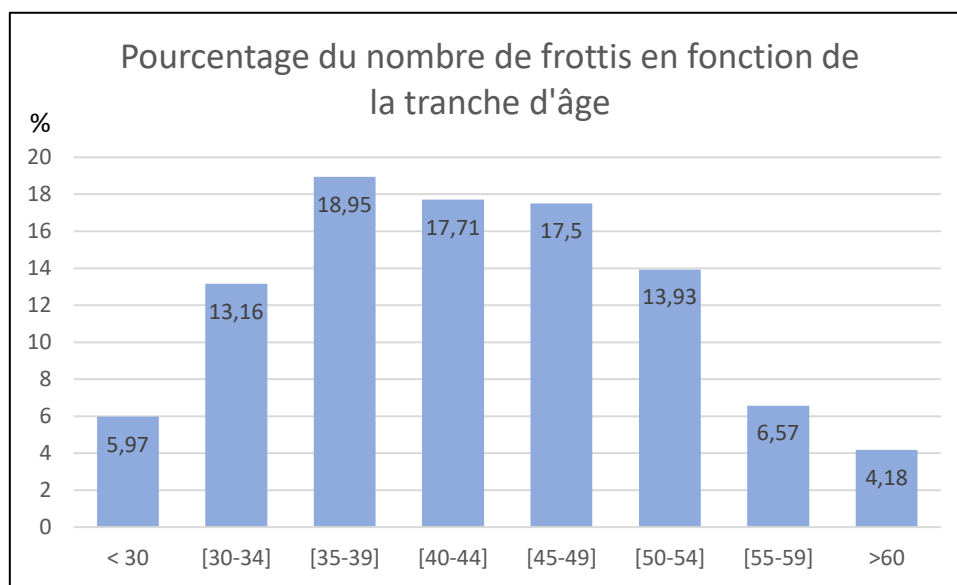


Figure 24 Pourcentage des nombres de frottis en fonction de la tranche d'âge.

Selon la figure, la tranche d'âge [35-39] ans est la plus affectée par les infections au HPV avec un pourcentage de 18,95%, alors que la tranche d'âge des >60 ans est la moins affectée avec un pourcentage de 4,18%.

A.5 Pourcentage des nombres de frottis HPV oncogène, non oncogène et total selon les unités

La figure 25 représente le nombre de frottis des patientes admises aux différentes unités de notre étude selon le type de HPV, qu'il soit oncogène, non oncogène ou bien les deux.

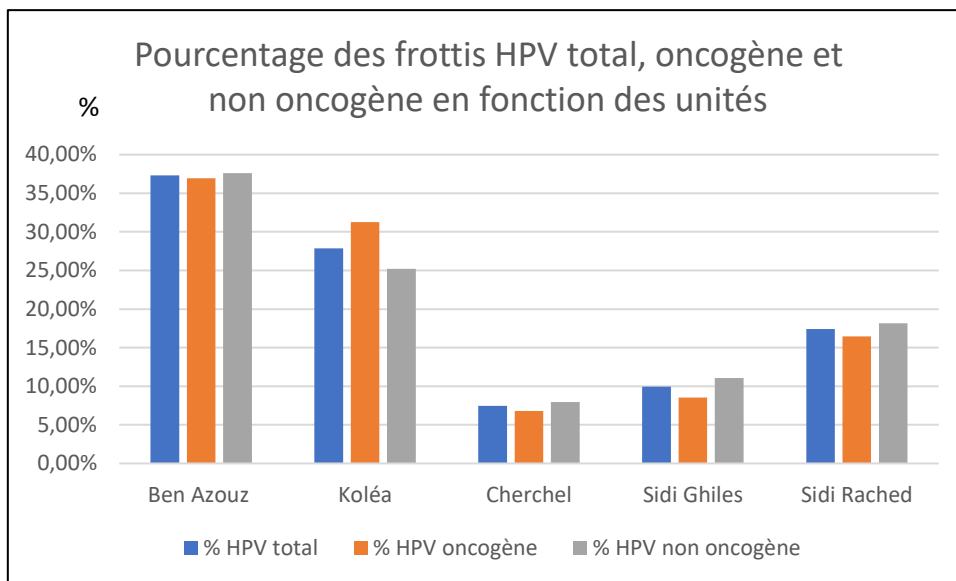


Figure 25 Pourcentage des nombres de frottis HPV total, oncogène et non oncogène en fonction des unités.

La figure 25 démontre que l’unité de Ben Azouz détient le pourcentage le plus élevé des frottis HPV+ avec une valeur de 36,93%, suivi de l’unité de Koléa avec un pourcentage de 31,25%, puis de l’unité de Sidi Rached avec un pourcentage de 16,47% et enfin des deux unités de Sidi Ghiles et de Chelchell avec 8,52% et 6,81% respectivement.

A.6 Pourcentage des frottis HPV + en fonction de l’unité

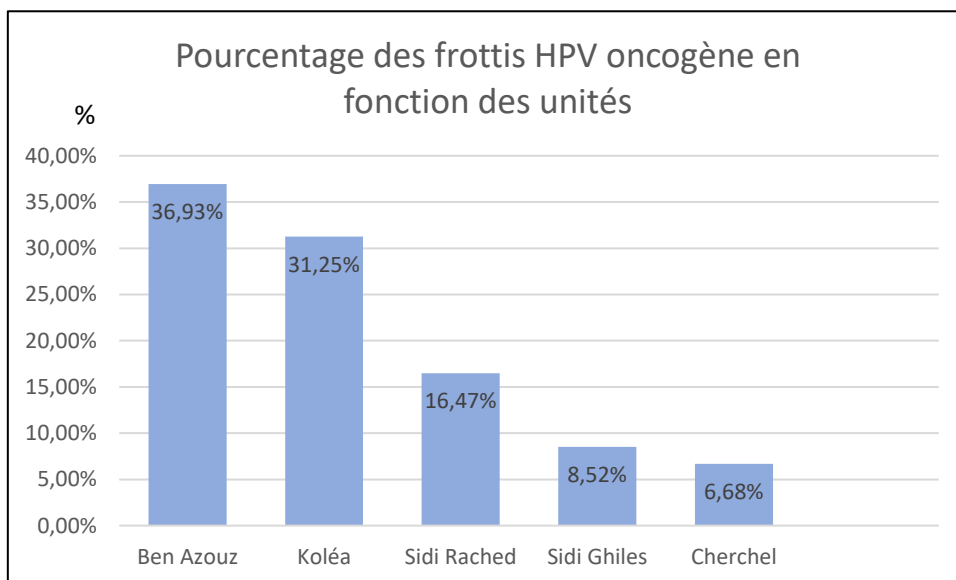


Figure 26 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction des unités.

Le résultat de répartition de frottis HPV+ selon les unités inscrit une valeur maximale pour l'unité de Ben Azouz avec un pourcentage de 39,93% suivi par l'unité de Koléa avec 31,25%, et enfin, le taux le plus bas enregistré est de 6,68% pour l'unité de Cherchell.

A.7 Pourcentage des frottis HPV + en fonction de la tranche d'âge

La figure 27 présente la prévalence des patientes, dont le test HPV est positif au sein des différentes unités d'étude en fonction de la tranche d'âge, comme suit :

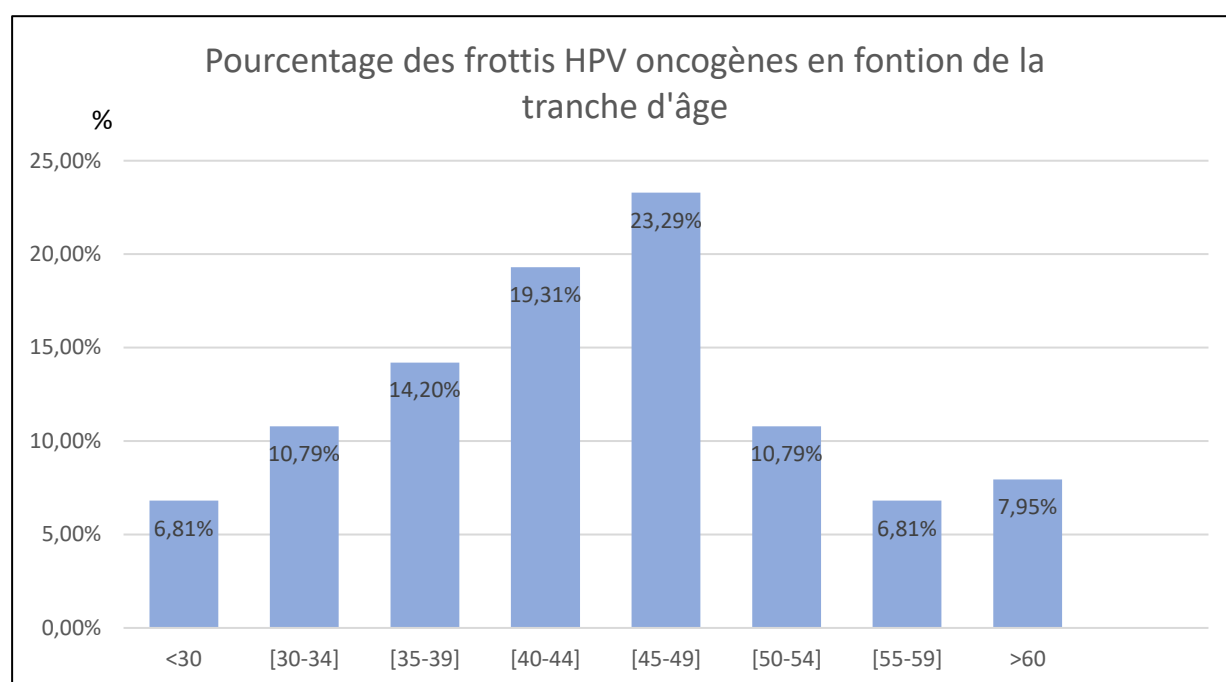


Figure 27 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction de la tranche d'âge.

Le résultat de répartition de frottis HPV+ selon la tranche d'âge inscrit une valeur maximale pour la tranche d'âge de [45- 49] ans avec un pourcentage de 23,29% suivi par la tranche d'âge de [40-44] ans avec 19,31%. Enfin, le taux le plus bas enregistré était de 6,81% pour les tranches d'âge < 30 ans et [55- 59] ans.

A.8 Pourcentage des frottis HPV + en fonction de la tranche d'âge par unité

La figure 28 présente la prévalence des patientes, dont le test HPV est positif au sein des différentes unités d'étude en fonction de la tranche d'âge par unité, comme suit :

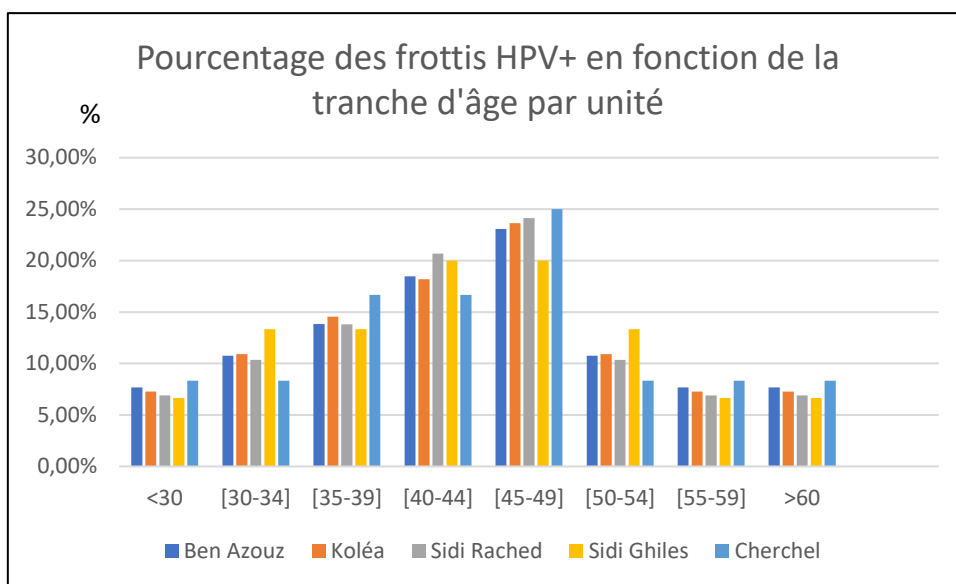


Figure 28 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction de la tranche d'âge par unité.

De la figure 28, on constate un pourcentage maximal de 25% au niveau de l'unité de Cherchell pour la tranche d'âge [45-49] ans, suivi par l'unité de Sidi Rached avec 24,14% et l'unité de Koléa avec 23,64% pour la même tranche d'âge.

Les pourcentages les moins élevés sont quant à eux enregistrés au niveau de l'unité de Sidi Ghiles avec un pourcentage de 6,67% pour les trois tranches d'âge suivantes : <30 ans, [55-59] ans et >60 ans.

A.9 Pourcentage des frottis HPV + en fonction des facteurs de risque

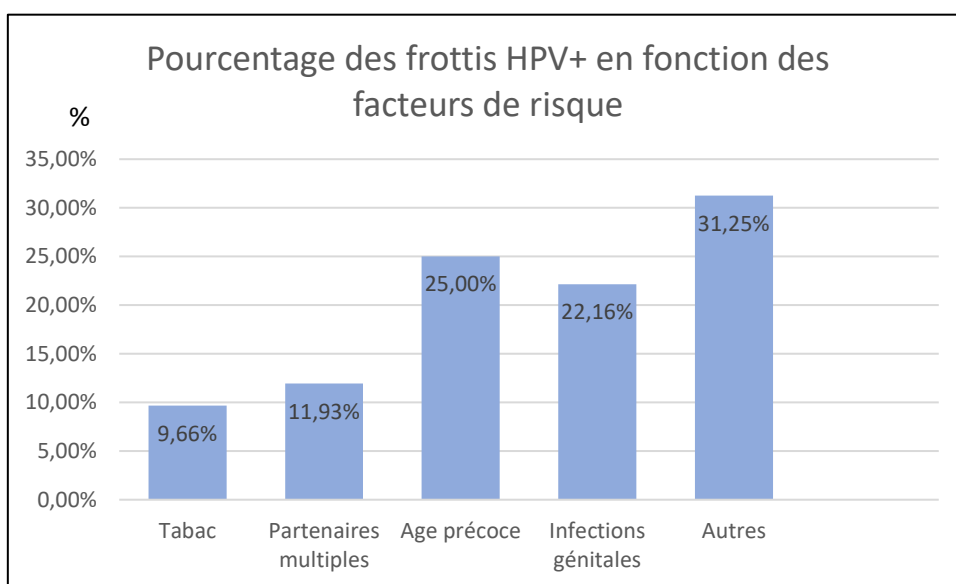


Figure 29 Répartition des pourcentages des frottis HPV + en fonction des facteurs de risque.

Selon la répartition des frottis HPV+ en fonction de facteur de risque, on observe un pourcentage très élevé de 31,25% pour autre, par rapport les facteurs de risque plus connus (Tabac, partenaire multiple, âge précoce, infection génitale).

A.10 Pourcentage des frottis HPV + en fonction des facteurs de risque par unité

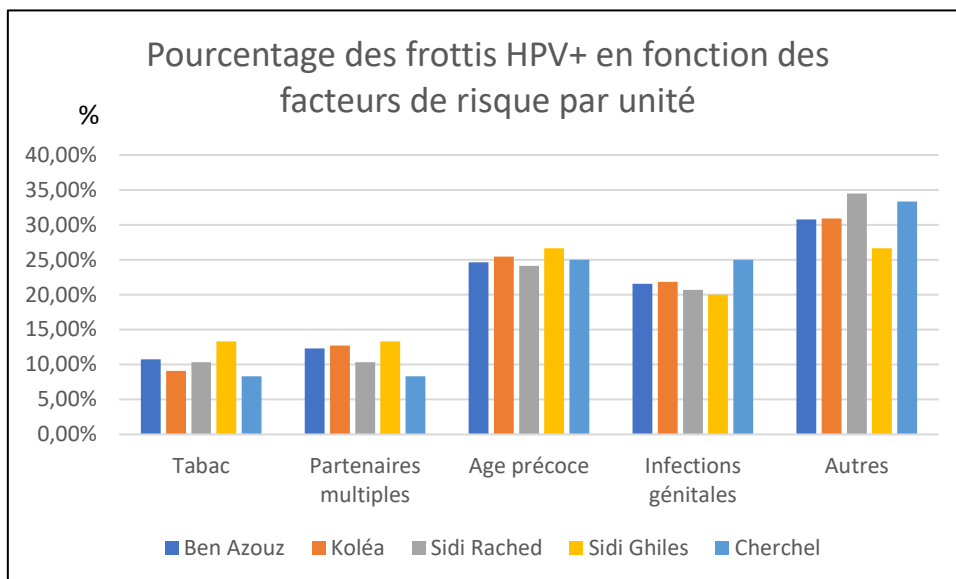


Figure 30 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ en fonction des facteurs de risque par unité.

Le résultat de la répartition des frottis HPV + en fonction de facteur de risque par unité montre que le tabac présent un taux minimal dans les différentes unités, avec un taux maximal pour autre.

A.11 Pourcentage des frottis HPV + en fonction des types de lésions

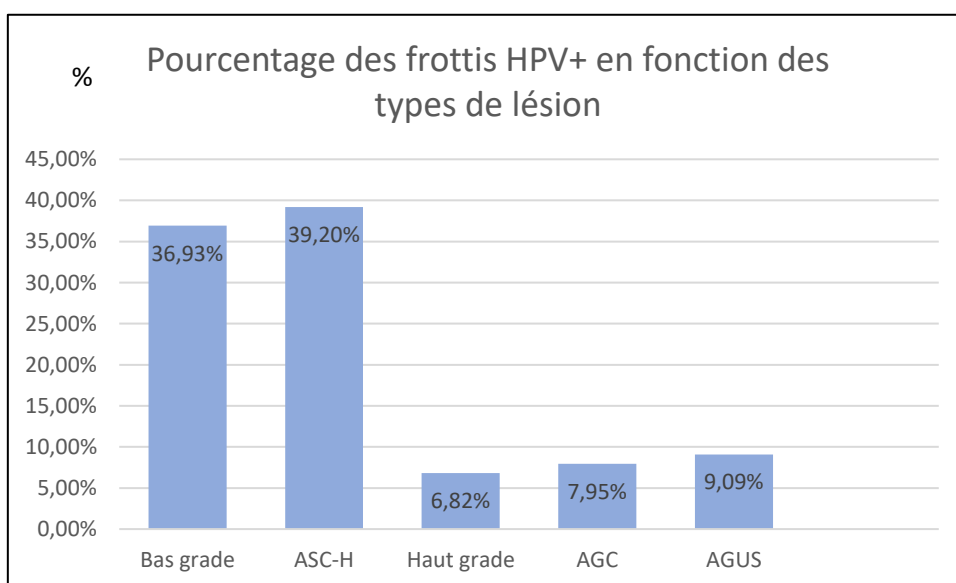


Figure 31 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ par type de lésion.

La figure 31 démontre que les lésions ASC-H sont les plus conséquentes avec un pourcentage de 39,20% suivies des lésions de bas grade avec un pourcentage de 36,93% ;

Les lésions AGUS, AGC et les lésions de haut grade sont représentées plus faiblement, avec des pourcentages de 9,09%, 7,95% et 6,82% respectivement.

A.12 Pourcentage des frottis HPV + en fonction des types de lésions par unité

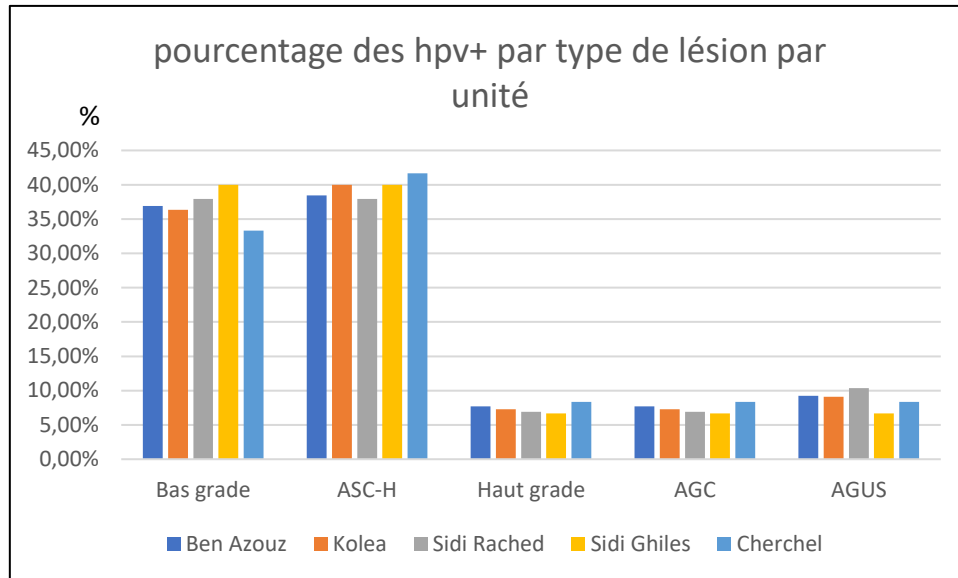


Figure 32 Répartition des pourcentages des frottis HPV+ par type de lésion par unité au niveau de la wilaya de Tipaza pendant l'année 2018.

Selon la figure 32, on a constaté que l'unité de Cherchell représente le pourcentage le plus élevé pour la lésion de ASCH avec un pourcentage de 41,67%.

B. Résultats cytologiques :

Parmi le nombre de frottis des femmes admises aux différents laboratoires cytologiques dans la wilaya de Tipaza, on a choisi les différents cas présentant des lésions liées à l'infection au HPV, les détails sont dans le tableau IX :

Tableau IX Représentation des lames avec la recommandation cytologique.

Numéro de lame	Anomalie cytologique	Persistance
N° 230	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion ASC-H.
N° 256	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion ASC-H.
N° 1319	Infection à HPV	Persistance vers une lésion ASC-H.
N° 238	Infection à HPV	Persistance vers une lésion de bas grade.
N° 248	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion de bas grade.
N° 688	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion de bas grade.
N° 655	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion de haut grade.
N° 1354	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion de haut grade.
N° 1367	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion de haut grade.
N° 295	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion AGC.
N° 555	Infection à HPV.	Persistance vers une lésion AGC.

B.1 Aspect cytologique des lésions virales à HPV :➤ **Présence des cellules Koilocytaires :**

- **Cellules koilocytes :** sont des cellules du col de l'utérus qui présentent une vacuole inhabituelle entourant le noyau cellulaire et qui sont liées à une infection virale de la cellule. La présence de koilocytes est donc un indicateur d'infection le plus souvent par le papillomavirus humain (HPV) .Il s'agit d'une cellule malpighienne superficielle ou intermédiaire possédant une zone claire périnucléaire, de taille importante et de contour irrégulier (**Bouhadef.A, 2016**)
- **Le noyau** est augmenté de taille, le diamètre est 2 à 3 fois celui du noyau de la cellule normale correspondante, parfois plus.
- Présence des binucléations et quelques irrégularités de contours nucléaires.
- **La chromatine** est dense, homogénéisée ou non.
- **Le cytoplasme** est basophile ou éosinophile.
- **Membrane nucléaire :** n'est pas visible.

B.2 Les critères cytologiques des lésions cervicales précancéreuses➤ **Les lésions intraépithéliales de ASCH :**

- Noyau augmenté de taille légèrement hyperchromatique.
- Rapport nucléo- cytoplasmique est augmenté.
- Présence de quelques cellules en file indienne.
- Nucléoles non apparents.

➤ **Les lésions intraépithéliales de bas grade**

- Prépondérance de cellules intermédiaires et superficielles.
 - **Noyau** : modérément augmenté de volume jusqu'à 3 fois celui de la cellule intermédiaire et légèrement irrégulier, binucléation.
 - **Chromatine** : granuleuse, réticulaire, homogène, hyperchromatisme
 - **Rapport nucléo_cytoplasmique** légèrement augmenté.
 - **Membrane nucléaire** légèrement épaissie.
- **Les lésions intraépithéliales de haut grade :**
- Prédominance de cellules parabasale et basale.
 - **Noyau** : très irrégulier que dans la dysplasie légère, hyperchromasie.
 - **Chromatine** : grossièrement granuleuse, réticulaire.
 - **Rapport nucléo-cytoplasmique** est augmenté.
 - **Membrane nucléaire** : indentée, épaissie.

B.3 Interprétation des résultats cytologiques

L'interprétation des frottis a été fait selon le système de betestha 2014

CI : Cellule intermédiaire ; **CK** : Cellule Koilocytaire ;

CS : Cellule superficielle ; **PN** : Polynucléaire

CPB : Cellule parabasale ;

PK : Parakeratose

FCV N° :230

- Femme âgée de 62 ans, ménopausée depuis 5 ans.
- 1^{er} rapport sexuel :18 ans
- Gestation : 07 Parité : 07 ABRT :00

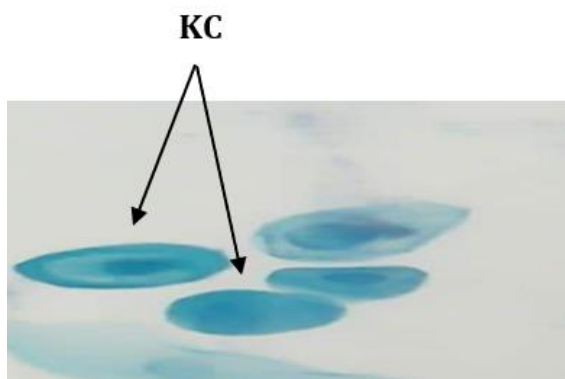


Figure 34 FCV 230 -1 (GX 10).

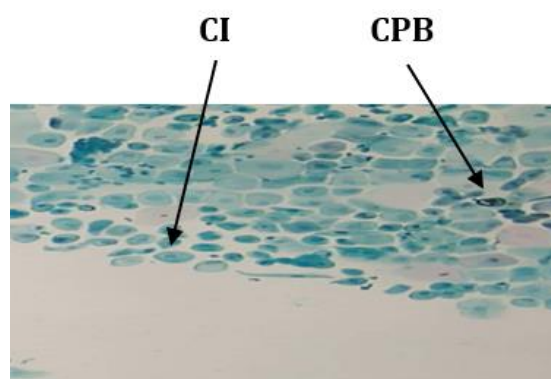


Figure 33 FCV230-2 (GX 40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions ASC-H.

FCV N° 256

- Âge : 25 ans.
- Âge du premier rapport : 24 ans.

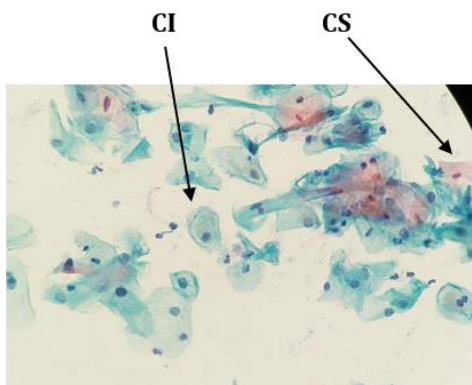


Figure 36 FCV 256 - 1 (G x 40).

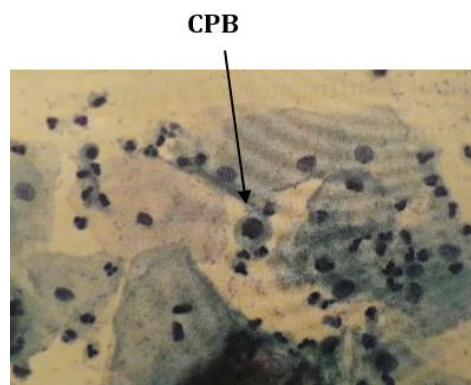


Figure 35 FCV 256 - 1 (G x 40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions ASC-H.

FCV N° : 1319

- Femme âgée de 29 ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 20ans.
- Présence de l'infection à répétition.

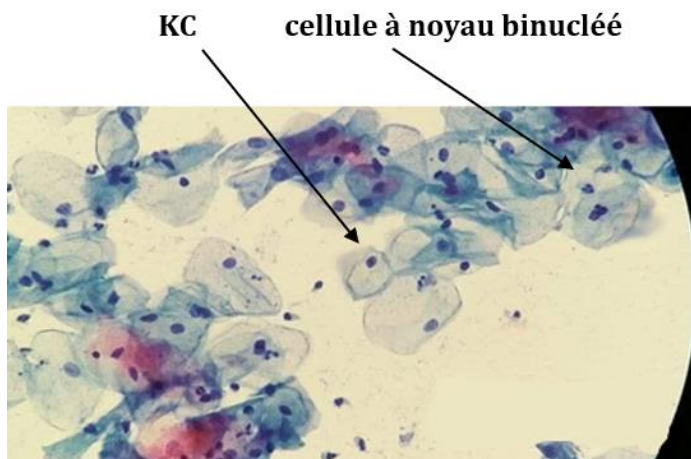


Figure 38 FCV 1319 - 1 (GX40).

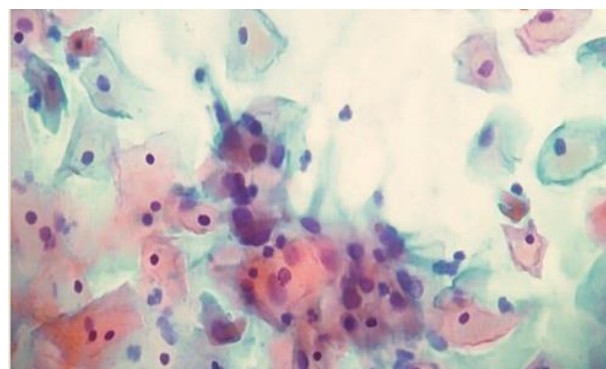


Figure 37 FCV 1319 - 2 (GX40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions ASC-H.

FCV N° : 238

- Âge : 35 ans
- 1^{er} rapport sexuel : 18 ans.
- Gestation : 02 Parité : 02 ABRT : 00

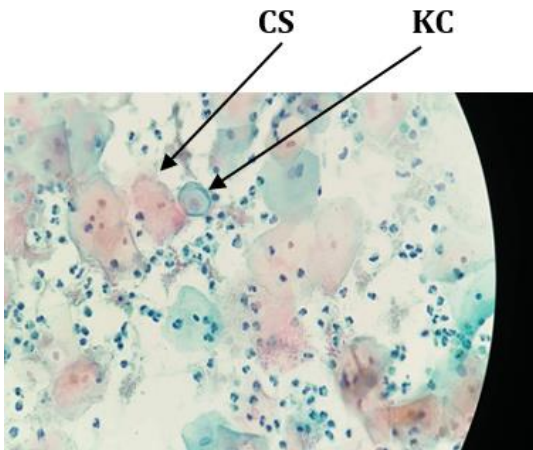


Figure 40 FCV 238 -1 (GX 40).

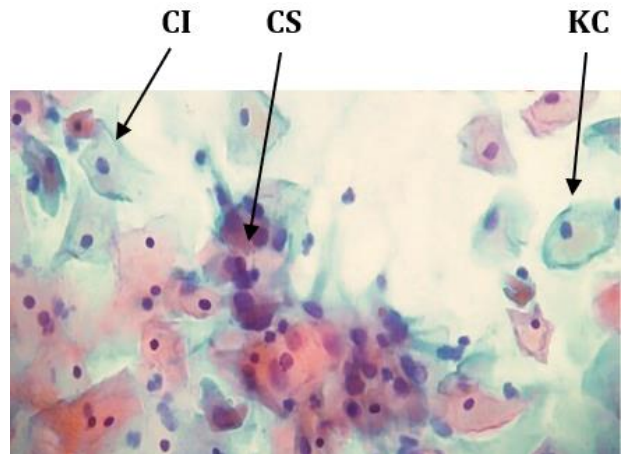


Figure 39 FCV 238 -1 (GX 40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de bas grade.

FCV N° : 248

- Âge : 37 ans.
- 1^{er} rapport sexuel : 24 ans.
- Contraception orale : +
- Gestation : 02 Parité : 02 ABRT : 00

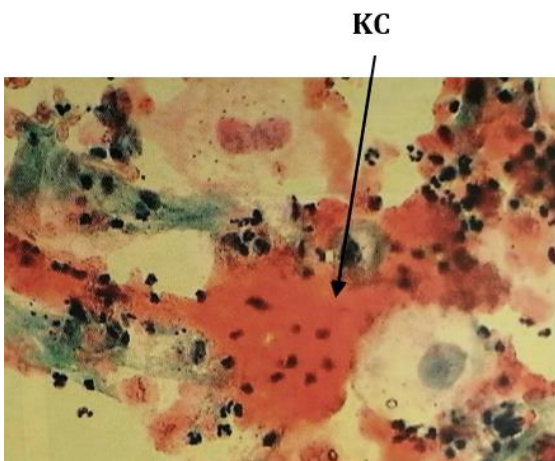


Figure 42 FCV 248 - 1.

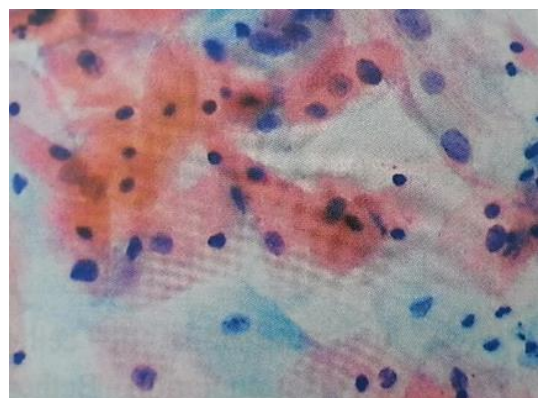


Figure 41 FCV 248 - 2.

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de bas grade.

FCV N° : 688

- Femme âgée de 58ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 20ans.
- Présence d'une infection à répétition.

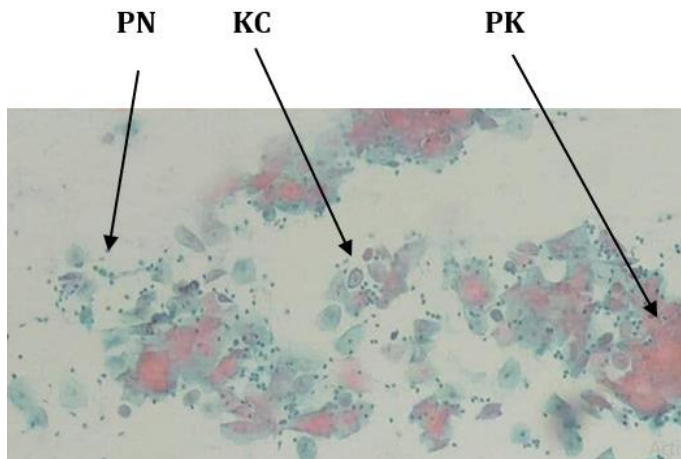


Figure 44 FCV 688 - 1.

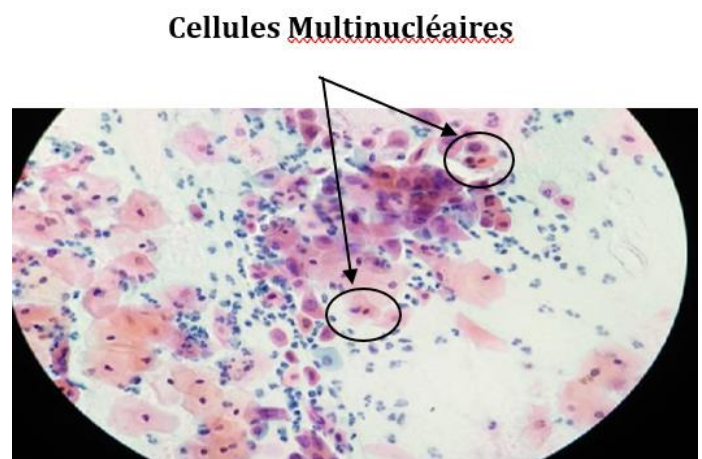


Figure 43 FCV 688 - 2.

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de bas grade.

FCV N° : 655

- Femme âgée de 59 ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 25 ans.
- Multiples partenaires : 04.

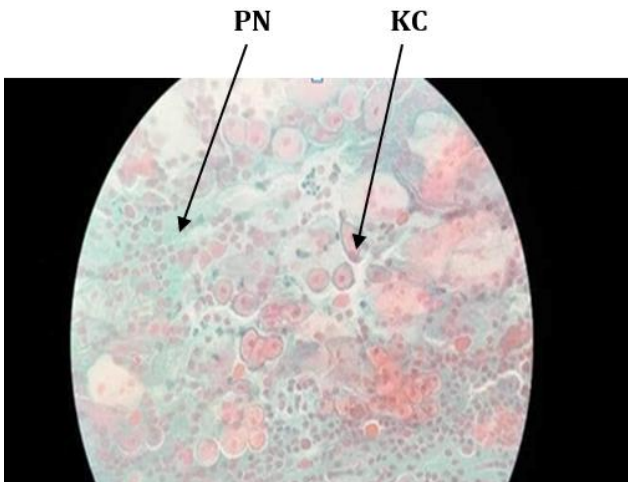


Figure 46 FCV 655 - 1.

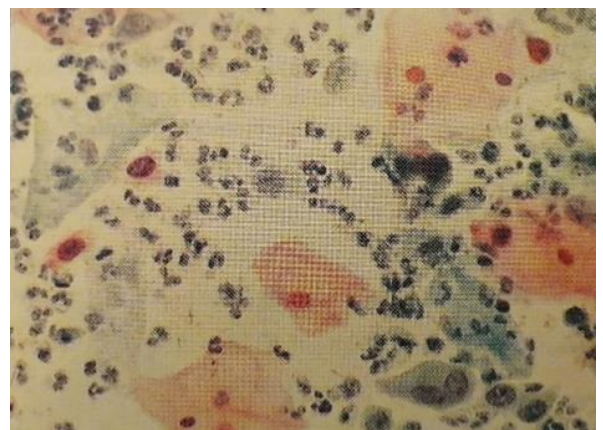


Figure 45 FCV 655 - 2.

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de haut grade.

FCV N° : 1354

- Femme âgée de 51 ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 16 ans.
- Tabac : positif.

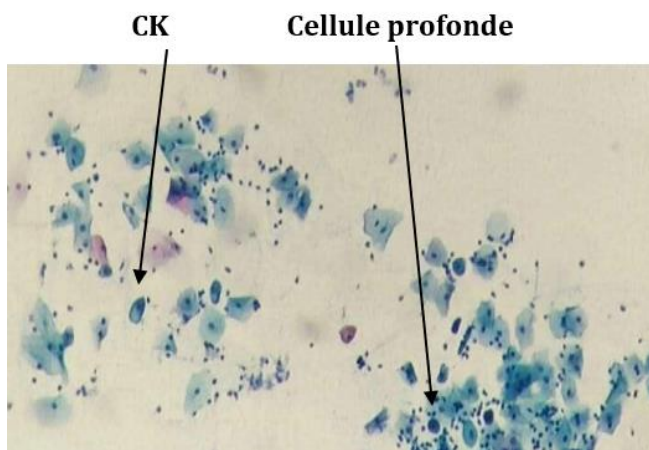


Figure 48 FCV 1354 - 1 (GX10).

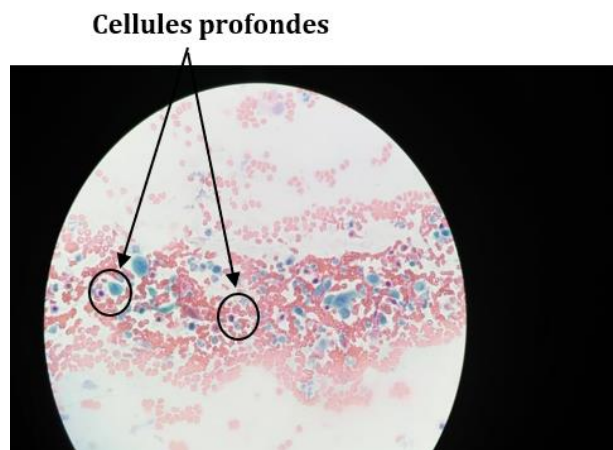


Figure 47 FCV 1354 - 2 (GX40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de haut grade.

FCV N° : 1367

- Femme âgée de 42 ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 25 ans.

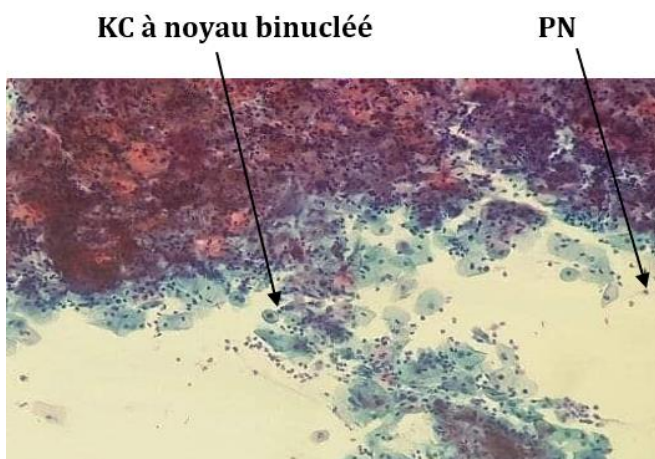


Figure 50 FCV 1367 - 1 (GX10).

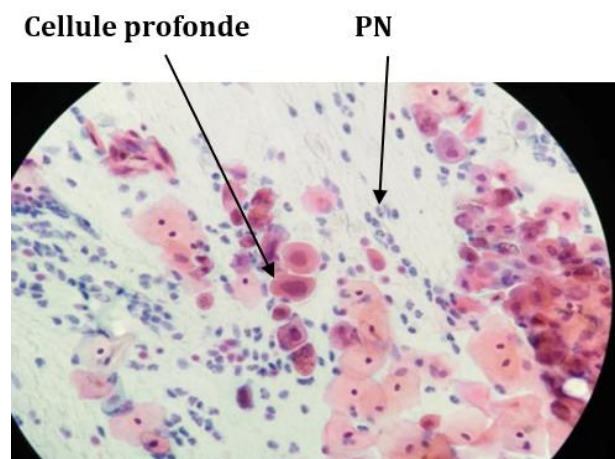


Figure 49 FCV 1367 - 2 (GX40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions de haut grade.

FCV N° : 295

- Âge : 45 (Frottis subatrophique).
- Âge de premier rapport sexuel : 17 ans
- Gestation : 03 Parité : 03 ABRT : 0

CI

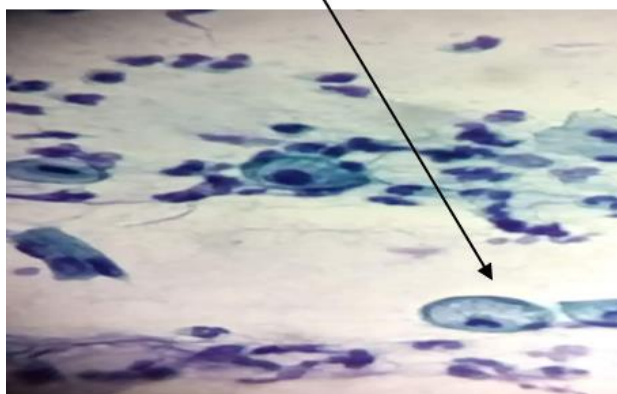


Figure 52 FCV 295 - 1 (GX40).

Amas des cellules endocervicales

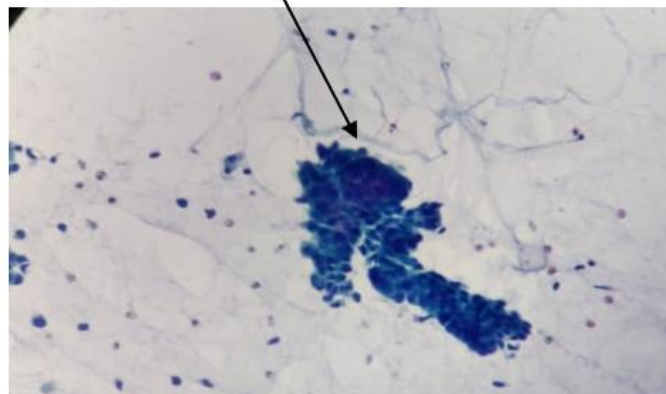


Figure 51 FCV 295 - 2 (GX40).

- Persistance de l'infection au HPV vers des lésions AGC.

FCV N° : 555

- Femme âgée de 48ans.
- Âge de premier rapport sexuel : 39 ans.
- Tabac : négative.

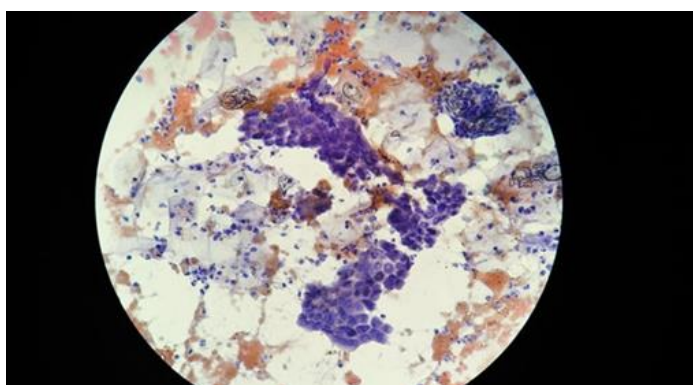


Figure 54 FCV 555 - 1 (GX40).

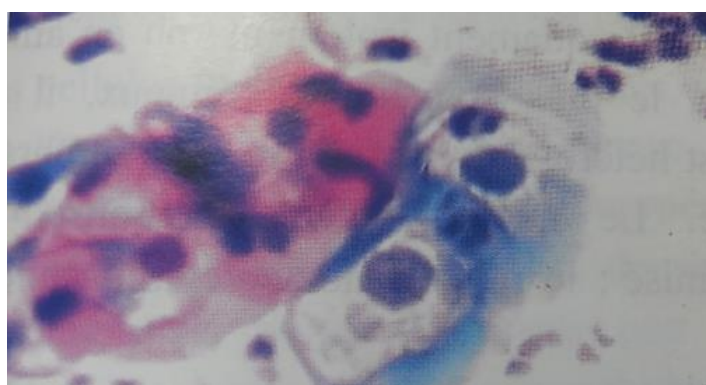


Figure 53 FCV 555 - 2.

- Persistance d'une infection à HPV vers des lésions AGC.

2. Étude bio-informatique

2.1 Analyse des séquences

D'après les résultats obtenus sur NCBI, on note que la séquence de l'oncoprotéine E7 de HPV-16 est plus petite en comparaison avec les autres séquences protéiques, elle compte 98 Aa, tandis que la séquence de la même oncoprotéine de HPV-18 compte 105 Aa. C'est là la première différence enregistrée entre les séquences protéiques des deux types viraux.

D'un autre côté, on remarque que l'oncoprotéine E6 de HPV-16 est la séquence protéique la plus longue avec 158 Aa au total. Son homologue au niveau de HPV-18 compte 145 Aa. Ces différences peuvent avoir un impact direct sur les alignements effectués grâce à BLAST.

Tableau X Les séquences à analyser.

Virus	Protéine	Locus
HPV-16	Oncoprotéine E6	158 Aa
	Oncoprotéine E7	98 Aa
HPV-18	Oncoprotéine E6	145 Aa
	Oncoprotéine E7	105Aa

4.1.1 Résultats de BLAST

A. Résultats de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18

En lançant BLASTp, les résultats obtenus se présentent sous différentes formes :

Le tableau XI ci-dessous représente le résultat global de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18 où le score représente le logarithme d'un « rapport de chances » et prend en compte le nombre de fois où un résidu particulier est remplacé par un autre dans la nature ou serait remplacé par un autre si, ça se produisait par chance.

Le pourcentage de couverture lui représente le chevauchement entre les deux séquences, le pourcentage d'identité décrit la similarité entre les séquences, et la E-value décrit le nombre de résultats qu'on s'attendrait à obtenir au hasard. En fonction des paramètres utilisés pour un programme, plus elle est faible plus le résultat est statistiquement significatif.

La comparaison entre les deux séquences des oncoprotéines E6 montre un pourcentage de couverture de 81%. Cela pourrait être dû au fait que les deux séquences ne soient pas de la même longueur.

En effet, l'oncoprotéine provenant de HPV-18 contient 145 Aa et celle de HPV-16 contient 158 Aa, un autre facteur aussi pourrait être dû à ce pourcentage de couverture, c'est celui des « gaps » qui sont causés par les insertions et délétions au niveau des deux séquences.

On remarque que le pourcentage d'identité est de 58%, ce qui signifie que 42% des bases ne sont pas identiques entre les deux séquences. Cela peut s'expliquer par le fait qu'il y

ait eu des mutations par substitution qui ont impacté nos protéines au cours de l'évolution. La E-value ici est très basse 4e-54, cela signifie qu'il est extrêmement improbable que la similarité entre nos deux séquences provienne au hasard, donc nos deux séquences sont homologues et dérivent d'un ancêtre commun.

Tableau XI Résultat global de l'alignement des séquences.

Total score	Query cover	E-value	Pourcentage d'identité
155	81%	4e-54	58.14%

La figure 55 ci-dessous représente l'alignement de nos deux séquences, on retrouve ici quelques informations mentionnées dans le tableau précédent (Tableau 10) comme le score, la E-value et le pourcentage d'identité.

L'alignement est représenté par trois lignes : la première et la troisième ligne représentent les séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18, quant à la deuxième ligne, elle correspond à la ligne symbole afin de faciliter la lecture de l'alignement :

- La lettre représente une identité.
- Le symbole « + » correspond aux substitutions conservatives.
- Quand il n'y a aucun symbole ni lettre, nous avons des substitutions non conservatrices.

On remarque que 129 acides aminés sont alignés pour les deux séquences, le 1er Aa du E6 de la HPV-16 correspond au 19ème Aa de celle provenant de la HPV-18 et le 129ème correspond au 147ème ce qui peut expliquer le fait qu'on ait eu 81% de couverture et non 100%.

On remarque aussi que sur les 129 Aa qui se sont alignés, il y en a 54 qui sont des substitutions soit conservatrices ou pas ce qui confirme ce qu'on avait dit précédemment.

AGM34425.1 E6, partial [Human papillomavirus type 18]						
Sequence ID: Query_8161 Length: 145 Number of Matches: 1						
Range 1: 1 to 129 Graphics				▼ Next Match ▲ Previous Match		
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	
155 bits(391)	4e-54	Compositional matrix adjust.	75/129(58%)	94/129(72%)	0/129(0%)	
Query	19	LPQLCTELQTTIHDIIIECVYCKQQLLRREVYDFAFRDLCIVYRDGNPYAVCDKCLKFYS				78
Sbjct	1	LPDLCTELNTSLQDIEITCVYCKTVLELTVFEFAFKDLFVVYRDSIPHAACHKCIDFYS				60
Query	79	KISEYRHYCYSVYGTTLEQQYNKPLCDLLIRCINCQKPLCPEEKQRHLDKKQRFHNIRGR				138
Sbjct	61	RIRELRYSDSVYGDITLEKLTNTGLYNLLIRCLRCQKPLNPAEKLRLHNEKRRFHKIAGH				120
Query	139	WTGRCMSCC				147
Sbjct	121	YRGQCHSCC				129

Figure 55 Alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18 (image personnelle., 2020).

La figure 56 ci-dessous représente un dot plot qui montre les régions de similarité entre les deux séquences. Le nombre de lignes présentées dans le plot est identique aux nombres d'alignements trouvés par BLAST. La superposition du E6 de la HPV-16 à celle de la HPV-18 nous donne un seul alignement sans aucune insertion ni délétion donc pas de « gaps ».

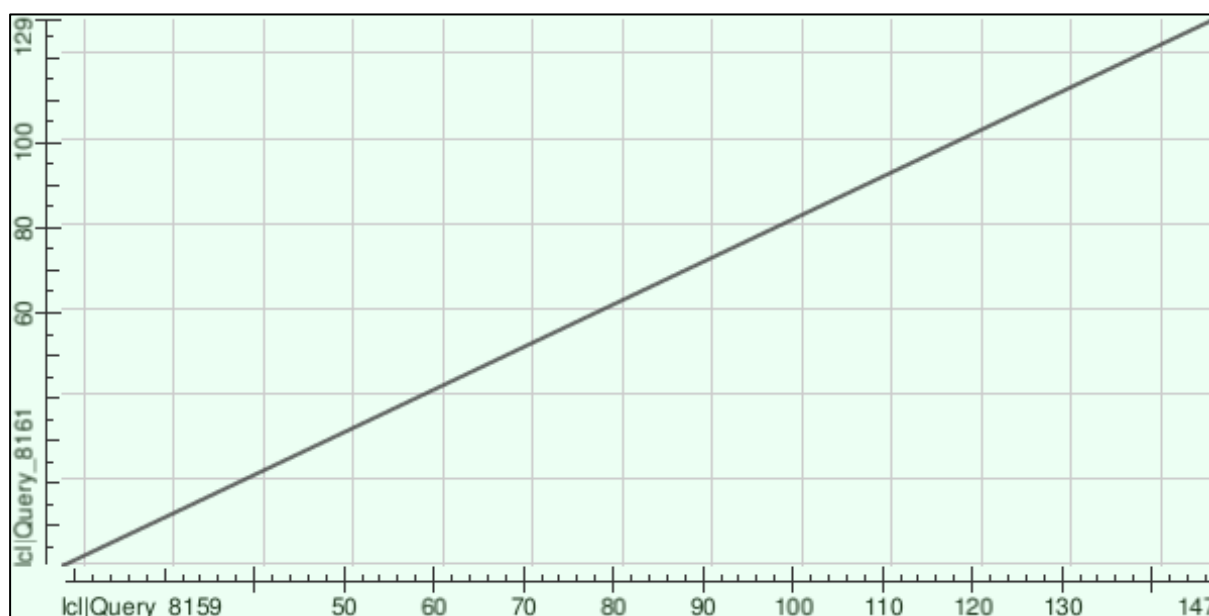


Figure 56 Dot plot de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18 (*image personnelle., 2020*).

B. Résultats de l'alignement des séquences des oncoprotéines E7 des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18

Le tableau XII ci-dessous représente le résultat global de l'alignement des séquences des oncoprotéines E7 de HPV-16 et HPV-18, on remarque que le pourcentage de couverture est de 98% ce qui est plus élevé cela peut être dû à la petite différence de taille entre les deux séquences protéiques. On a 41% d'identité donc 59% des résidus qui ne sont pas identiques entre les deux oncoprotéines à la suite de mutations par substitutions. En ce qui concerne la E-value, elle est relativement basse ce qui signifie que nos deux séquences sont homologues issues d'un ancêtre commun.

Tableau XII Résultat global de l'alignement des séquences.

Total score	Query cover	E-value	Pourcentage d'identité
84	98%	1e-27	41.51%

La figure 57 ci-dessous représente l'alignement des deux séquences de l'oncoprotéine E7. On remarque que 106 acides aminés sont alignés pour les deux séquences.

Le début de l'alignement est pareil pour les deux séquences, cependant les derniers résidus ne sont pas sur le même emplacement. En effet, le 97ème Aa de l'oncoprotéine provenant de HPV-16 correspond au 104ème provenant de HPV-18. On remarque aussi qu'il y a des gaps du a des délétions et insertions dans les deux séquences. Parmi les 106 Aa qui se sont alignés, il y'en a 62 qui sont des substitutions soit conservatrices ou pas ce qui confirme ce qu'on avait dit précédemment.

AGM34461.1 E7 [Human papillomavirus type 18]						
Sequence ID: Query_18913 Length: 105 Number of Matches: 1						
Range 1: 1 to 104 Graphics ▼ Next Match ▲ Previous Match						
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	
84.0 bits(206)	1e-27	Compositional matrix adjust.	44/106(42%)	65/106(61%)	11/106(10%)	
Query 1	MHGDTPTLHEYMLDLQPET---	TDLYCYEQLNDSSEEEDEIDG-----	PAGQAEPDRAH	51		
Sbjct 1	M+G TL + +L L+P+	DL C+EQL+DS EE DEIDG	PA +AEP R	58		
Query 52	YNIVTFCKKCDSTLRRCVQSTHVD	IRLTLEDLLMGTLGIVCPICSQK	97			
Sbjct 59	+ ++ CCKC++ + L V+S+ D+R + L + TL VCP C+ +	HTMLCMCKCEARIELVVESSADDLRAFQQQLFLSTLSFVCPWCASQ	104			

Figure 57 Alignement des séquences des oncoprotéines E7 de HPV-16 et HPV-18 (image personnelle., 2020).

La figure 58 ci-dessous représente un dot plot qui montre les régions de similarité entre les deux séquences des oncoprotéines E7 de HPV-16 et HPV18. Chaque ligne représente un alignement, on remarque 4 lignes sur notre plot ce qui correspond à trois régions possédant des gaps comme on le voit sur la figure qui représente l'alignement.

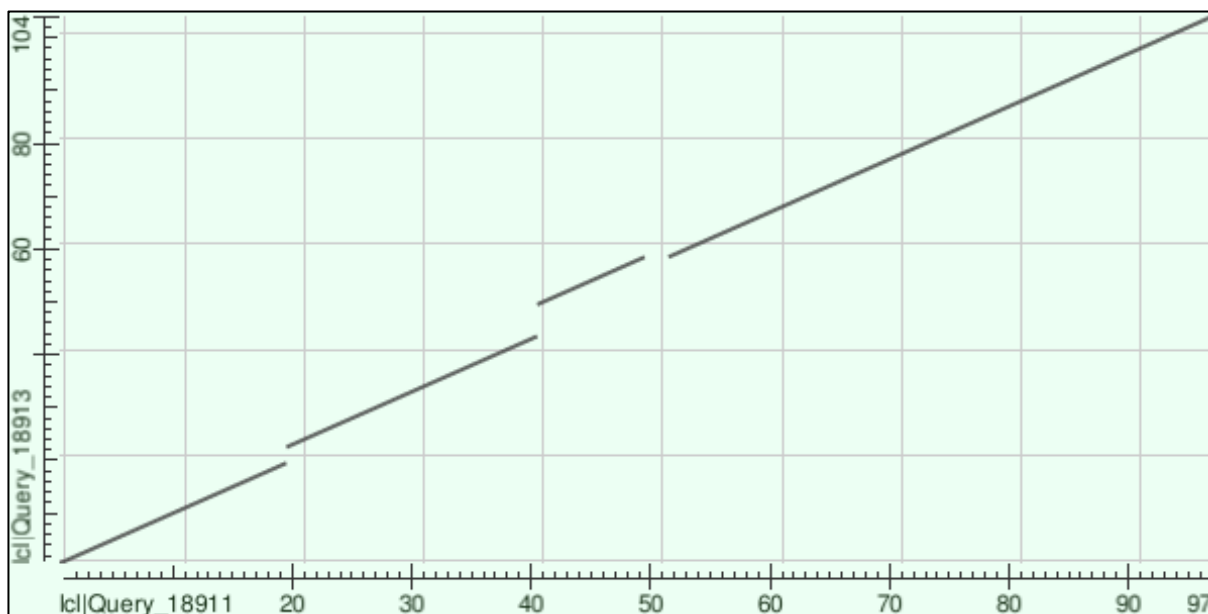


Figure 58 Dot plot de l'alignement des séquences des oncoprotéines E6 de HPV-16 et HPV-18 (image personnelle., 2020).

Discussion

Discussion

Les cancers féminins sont particulièrement agressifs, en particulier ceux qui touchent la sphère gynécologique qui représente 50 % du total des cancers capables de toucher la femme dans le monde avec environ 2 millions de cas recensés annuellement (**Sancho-Garnier, 2013**).

Le cancer du col de l'utérus représente un grand nombre de ces cancers gynécologiques à cause desquels les femmes des pays à niveau de développement faible peuvent souffrir. Il représente 90 % des cas et c'est le second type de cancer le plus retrouvé dans ces régions. Cela est dû au fait du manque de moyens qui ne permet aucun dépistage, diagnostic ou traitement (**Sancho-Garnier, 2013**).

De plus, le cancer du col de l'utérus est un cancer à développement lent qui passe par de nombreuses étapes évolutives. D'abord, c'est l'infection par le HPV qui est enregistrée et qui peut conduire à des lésions précancéreuses. Celles-ci peuvent dans certains cas disparaître, mais elles peuvent également persister et évoluer.

Les lésions précancéreuses peuvent se transformer en cancer du col de l'utérus précoce aussi appelé cancer *in situ*, qui peut lui-même progresser vers un cancer invasif.

En Algérie, les infections persistantes au HPV pouvant aboutir à des lésions précancéreuses et des cancers constituent un problème de santé publique très important. C'est pourquoi la présente étude est une étude épidémiologique rétrospective portée sur 5022 frottis adressés aux différentes unités dans la wilaya de TIPAZA.

Cette étude a été effectuée dans le but est d'évaluer les activités de dépistage du cancer du col de l'utérus en Algérie. Toutes les données statistiques de notre étude ont été traitées à l'aide de logiciel Microsoft Office EXCEL 2019.

- **Prévalence du nombre de HPV par unité**

Les résultats HPV+ les plus importants étaient enregistrés aux unités de *BEN AZZOUZ* et *KOLEA* avec des pourcentages de 37,31% et 27,86% respectivement, et cela est dû probablement au taux de participation au dépistage et à la raison d'une campagne d'information et de sensibilisation relativement importante en cette Daïra, par rapport aux autres unités. Mais ça reste en deçà des objectifs du programme national de dépistage du cancer du col de l'utérus lancé depuis 2001 en Algérie.

Le rôle professionnel de santé est très important. Il est recommandé que les services doivent faire partie d'un vaste programme destiné à améliorer la santé sexuelle. Parallèlement, il est indispensable de mener une action concertée et coordonnée pour sensibiliser la population à la prévention et au dépistage du cancer du col par tous les moyens notamment les moyens audio-visuels (**OMS, 2007**).

- **Répartition de nombre de frottis en fonction de la tranche d'âge**

Notre étude nous a permis de constater que le dépistage s'effectue assez tardivement, puisque la majorité des femmes dépistées l'ont réalisé entre [40- 44] ans et [45-49] ans, avec des

Discussion

pourcentages de 16,66% et 26,86% respectivement, alors que normalement il doit commencer aux alentours de la première tranche d'âge [25- 30] ans.

- **Répartition des frottis HPV+ en fonction de la tranche d'âge**

Les individus les plus touchés par l'infection à HPV sont situés entre [40- 44] ans et [45- 49] ans avec des pourcentages de 19,31% et 23,29% respectivement.

Cela pourrait être expliqué par l'utilisation de contraceptifs oraux à longue durée, à un déséquilibre hormonal retrouvé surtout lors de la période de préménopause.

D'après (**Duport, 2008**), la plupart des cas des cancers du col sont diagnostiqués chez les femmes à partir de 40 ans, le frottis doit être effectué bien avant de cet âge.

- **Les facteurs de risque**

Le cancer du col utérin est une maladie d'origine infectieuse avec l'interaction de plusieurs cofacteurs qui interviennent dans l'apparition et le développement de cette maladie. Nous nous sommes intéressés aux facteurs de risque suivants : le tabac, le multipartenaire, le mariage précoce, et l'infection génitale.

- **Tabagisme**

Dans notre étude le tabac représente le taux le plus bas 9,66% si on le compare avec d'autres facteurs de risques, cela peut être expliqué par le fait que la consommation du tabac chez les femmes est un sujet tabou. D'autre part les malades sont souvent exposées au tabagisme passif, alors que le tabac est considéré comme un facteur de risque dans la majorité des cancers.

Le tabac augmente très fortement le risque de développer un cancer du col de l'utérus. Il est devenu, en quelques années, le facteur de risque le plus important, après l'infection par le virus du papillome humain HPV (**Hausen, 2008**). Ce risque relatif est en fonction du : Nombre de cigarettes consommées par jour, la durée d'exposition au tabac et l'utilisation de cigarette sans filtre (**Khadiri, 2003**).

- **Le mariage précoce**

Dans notre étude 25% des femmes ont eu des rapports sexuels très précoces (entre 15 et 18 ans), l'activité sexuelle précoce accroît le risque du cancer du col de l'utérus puisqu'un grand nombre des changements qui se produisent dans le tissu cervical lors de la puberté rendent la région plus vulnérable aux lésions. Nos résultats sont en accord avec la littérature, car le cancer du col de l'utérus est plus fréquent chez les femmes ayant eu des rapports sexuels très tôt, car l'infection à HPV serait facilitée par l'existence d'un système immunitaire pas encore complètement mature (**Mubiayi, 2000**).

- **Multiplicité des partenaires**

C'est une notion difficile à la préciser, car elle représente un sujet tabou. Elle a été précisée selon la situation familiale des sujets. Dans la population malade, la multiplicité des partenaires est représentée chez 11,93% des femmes qui sont mariées au moins deux fois.

Le risque est plus élevé si on a des relations sexuelles avec de nombreux partenaires, probablement en raison d'une plus grande exposition au HPV, qui est souvent transmise sexuellement. Cependant, une femme peut être infectée par le HPV même si elle n'a eu qu'un seul partenaire sexuel (**Mubiayi, 2000**).

Discussion

▪ L'infection génitale

Dans la population malade, l'infection génitale est représentée chez 21,16% des femmes.

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, 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 virus de l'herpès 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 JS, 2002**)

▪ Autre

Cette catégorie regroupe d'autres cofacteurs qui augmentent le risque de développer des lésions précancéreuses, tel que la multiparité, l'infection par le VIH, et l'utilisation prolongée de contraceptifs oraux, et quelle représente un taux très important de 31,25%.

▪ Nombre de grossesses

La parité élevée est considérée comme un cofacteur de l'infection à HPV. En comparant des femmes malades par rapport à des femmes qui n'ont jamais eu d'enfant, celles qui ont eu trois ou quatre ont 2,6 fois plus de risque de contracter un cancer du col utérin. Celles qui ont eu sept ou plus avaient 3,8 fois plus de risque (**Munoz, 2002**).

▪ L'infection par le VIH

Les femmes infectées par le VIH sont plus facilement infectées par des types de HPV à risque élevé, et risquent de développer des lésions précancéreuses (et de les développer plus rapidement) que les femmes séronégatives au VIH dans la même catégorie d'âge (**De Sanjose S, Palefsky J 2003**).

▪ Utilisation prolongée de contraceptifs oraux

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 analyse de données groupées à partir de 10 études cas-témoins de patientes atteintes d'un cancer du col invasif, 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 V, et al**).

• Répartition des frottis HPV + par type de lésion

L'infection par HPV représente l'une des maladies sexuellement transmissibles les plus fréquentes. Il est bien démontré que le HPV joue un rôle primordial dans le développement des lésions intraépithéliales et des cancers génitaux, surtout au niveau du col utérin (**Walker et al., 2001**).

Selon notre étude rétrospective, nous estimons que les anomalies intraépithéliales et les lésions précancéreuses sont représentées par un pourcentage de 36,93% des lésions de bas grade et un pourcentage de 39,20% des lésions ASCH. Ce sont les deux types de lésions majoritaires, qui reviennent dans la plupart des cas.

Discussion

Selon l'ANAES, les lésions de bas grade variaient de 10,7 % à 47 %, un contrôle de colposcopie avec biopsies dirigées après un frottis évoquant une lésion de bas grade est recommandé (ANAES 1998).

En ce qui concerne les lésions de haut grade, notre résultat a révélé un taux de (6,82%), ce qui est concorde à celle rapportée par une étude menée au niveau de la wilaya de Bechar (3,91%) par (CHIAH ;2014).

- Les papillomavirus infectent les cellules germinales de la couche basale des épithéliums malpighiennes vraisemblablement au profit d'une microlésion, ces cellules se divisent, certaines d'entre elles migrent vers le niveau supérieur où elles se différencient. Cette différenciation nécessite l'utilisation de la machinerie cellulaire de réplication de l'hôte pour la synthèse de l'ADN viral. Cependant, le virus stimule la progression de l'étape G vers l'étape S du cycle cellulaire dans la cellule hôte ainsi les cellules se différencient, les gènes viraux s'activent et l'ADN viral se réplique, ces différentes étapes aboutissent à la formation de nouvelles particules virales après synthèse des protéines de la capsid.
- Les lésions qui évoluent généralement vers un cancer sont caractérisées par une rupture du génome d'HPV qui s'intègre dans l'ADN de l'hôte. Cette étape est considérée comme une étape irréversible conduisant à la transformation cancéreuse. **Doorbar (2005)**.
- D'après **Monsonogo (2006)** et **IARC (2007)**, il a été démontré que deux protéines virales étaient principalement impliquées, qui sont les protéines précoces E6 et E7.
- La protéine E6 est impliquée dans la progression vers un phénotype malin, elle représente l'antigène le plus incriminé dans le processus d'oncogenèse de l'HPV. Suite à l'infection par HPV, E6 interfère avec les voies de signalisation cellulaire pour créer un environnement favorable à la réplication de l'ADN viral, ainsi les contrôles de surveillance de la cellule qui sont activés dans les cellules infectées. Elle permet également à la cellule infectée d'échapper à l'arrêt du cycle cellulaire donc à l'apoptose en favorisant la dégradation de p53 ce qui entraîne une accumulation des dommages causés à l'ADN, et par la suite dans la malignité. **Mantovani et Banks (2001)**,
- D'après **Dyson et al (1992)**, la protéine E7 interfère avec les voies de signalisation incluant la prolifération, la différenciation et l'apoptose. Durant l'infection par l'HPV, E7 interagit avec la fonction de la protéine de rétinoblastome permettant d'induire la dégradation protéolytique de la pRB. Ainsi le complexe pRb/E2F se déstabilise, il en résulte la libération de l'activité transcriptionnelle E2F, et donc l'activation des régulateurs du cycle cellulaire sensible à l'E2F comme cdc25 et les cyclines E et D qui augmentent ce qui induit l'entrée de la cellule dans la phase S.

Enfin, selon **Zur Hausen (2002)**, l'action combinée des oncoprotéines E6 et E7 conduit à une prolifération cellulaire incontrôlée qui s'accompagne d'anomalies génétiques qui peuvent conduire à l'immortalisation puis à la transformation de la cellule infectée par HPV.

Conclusion

Conclusion

Dans le monde entier, toutes les femmes sont exposées à de grands risques de contracter le cancer du col de l'utérus, cela peut avoir plusieurs répercussions sur leur quotidien. Cependant, dans les pays encore non développés, ces risques sont d'autant plus majeurs, car ce type de cancer est l'une des causes des plus considérables des décès annuels. C'est donc un problème de santé publique important.

Dans le cadre de la préparation d'un projet de fin d'étude portant sur « la persistance du virus HPV (16 et 18) vers des lésions précancéreuses », nous avons tenté de comprendre et d'étudier les modifications cellulaires pouvant conduire à des lésions précancéreuses ou des cancers du col de l'utérus, et ce grâce à des études statistiques.

Avant d'aboutir à un cancer à proprement parler, les cellules subissent plusieurs transformations morphologiques. Chacune est relative à un stade bien précis de l'évolution de l'infection au HPV.

Généralement, les premiers stades sont caractérisés par l'apparition de cervicites qui sont visibles sur les frottis cervico-utérins ou FCU. Lorsque le dépistage est absent et le traitement et en l'occurrence inexistant, ces dernières se transforment pour devenir des dysplasies et néoplasies.

Différents aspects cytologiques et histologiques ont été enregistrés tels que : les lésions intraépithéliales de bas grade qui se caractérise généralement par la présence des koilocytes, les lésions de haut grade ainsi que les lésions ASCH et AGC.

Dans le but d'éviter ce type de problèmes de santé publique, il semble plus judicieux d'adopter des stratégies de dépistage du cancer du col de l'utérus plus consistantes.

En effet, les femmes âgées d'entre 25 et 65 ans peuvent réaliser des FCU à échelle plus ou moins régulière, de préférence tous les trois ans. Ainsi, il est possible de révéler les lésions précancéreuses et de s'y prendre à temps pour les traiter et éviter une évolution vers un cancer du col utérin.

Une autre théorie pouvant aider à mieux gérer cette progression est la vaccination contre le papillomavirus humain. Cette stratégie permet de lutter contre les lésions précancéreuses et non contre le cancer du col de l'utérus lui-même.

Enfin, il est possible de prendre en considération des techniques de biologie moléculaire comme la PCR en temps réel afin de détecter et de manière précoce les lésions précancéreuses.

Ensuite, nous avons réalisé une étude bio-informatique afin de comparer les oncoprotéines E6 et E7 provenant des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18.

Nous avons d'abord téléchargé nos quatre séquences protéiques en utilisant la base de données « protein » de NCBI, puis nous avons fait une comparaison entre les séquences en utilisant l'outil d'alignement BLAST qui aligne les séquences deux par deux. Un premier alignement a été effectué entre les séquences des oncoprotéines E6 des deux types de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18, on a obtenu 81% de couverture et 58% d'identité avec une E-value de 4e-54. Le deuxième alignement a été fait entre les séquences des oncoprotéines E7 des deux types

Conclusion

de papillomavirus humain HPV-16 et HPV-18 et nous avons obtenu cette fois 98% de couverture et 41% d'identité avec une E-value de $1e-27$.

Malgré le faible pourcentage d'identité des deux alignements, nous avons un pourcentage de couverture qui est plutôt élevé et une faible E-value. On conclut que les oncoprotéines E6 provenant des HPV-16 et HPV-18 sont homologues et issues d'un même ancêtre commun ainsi pour les oncoprotéine E7.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

ANAES (1998). Conduite à tenir devant un frottis anormal du col de l'utérus, Services des Recommandations Professionnels. Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en santé. Codex, France.

ANORLU, R. I. 2008. What is the significance of the HPV epidemic? *Can J Urol*, 15, 3860-5.

Aubin, F., Pretet, J.L. et Mougin, C.H. (2003) Papillomavirus humains – Biologie et pathologie tumorale. Editions EM inter, Editions TEC & DOC.

B

Bailey, HH. Chuang, LT. duPont, NC. Eng,C. Foxhall,LE. Merrill,Jk (2016). American Society of Clinical Oncology Statement: Human Papillomavirus Vaccination for Cancer Prevention. *Journal of Clinical Oncology*, 34 (15), 1803-1812.

Beaudenon, S., and Huibregtse, J.M. (2008). HPV E6, E6AP and cervical cancer. *BMC Biochem.* 9 *Suppl 1*, S4.

Beaudin, S. (2015). Histologie de l'utérus et classification des lésions (pré)cancéreuses du col. P.1.

Bergvall,M.Melendy,T.Archambault,J(2013). The E1 proteins. *Virology*, 445,35-56.

Bernard, H.-U. (2002). Gene expression of genital human papillomaviruses and considerations on potential antiviral approaches. *Antivir. Ther. (Lond.)* 7, 219-237.

Blanc, B. (2005) Le dépistage du cancer du col de l'utérus. Springer P 107.

Bodily, J., and Laimins, L.A. (2011). Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends Microbiol.* 19, 33-39.

Bosch, F.X., Manos, M.M., Muñoz, N., Sherman, M., Jansen, A.M., Pet, J., Schiffman, M.H., Moreno, V., Kurman, R., and Shah, K.V. (1995). Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J. Cancer Inst.* 87, 796-802.

Bosch, F.X., and De Sanjosé, S. (2002). Human papillomavirus in cervical cancer. *Curr Oncol Rep* 4, 175-183.

BOUHADEF.A, F. ASSELAH, A. BOUDRICHE N. CHAOUIA, F/Z. BENSERAI, A. KADDOURI-SLIMANI & collaborateurs (2016). Cytopathologie de Dépistage des Précurseurs et du Cancer du Col de l'Utérus.

Boyer, S.N., Wazer, D.E., and Band, V. (1996). E7 protein of human papillomavirus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. *Cancer Res.* 56, 4620-4624

Braaten, KP. Laufer,MR (2008). Human papillomavirus (HPV), HPV-related disease, and the HPV vaccine. *Reviews in obstetrics and gynecology*, 1(1), 2.

Bravo, IG et Sanchez, MF (2015). Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine. *Evol Med Public Health*, 2015, 32-51.

Références bibliographiques

Broker, T.R., Jin, G., Croom-Rivers, A., Bragg, S.M., Richardson, M., Chow, L.T., Vermund, S.H., Alvarez, R.D., Rappas, P.G., Squires, K.E., et al (2001). Viral latency-the papillomavirus model. *Dev Biol* (Basel) *106*, 443-451; discussion 452-453, 465-475.

Burd, E.M. (2003). Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical microbiology, reviews*, 16 (1).

C

Centre International de Recherche sur le Cancer (2013). Dernières statistiques mondiales sur le cancer en augmentation à 14,1 millions de nouveaux cas en 2012.

Chellappan, S., Kraus, V.B., Kroger, B., Munger, K., Howley, P.M., Phelps, W.C., and Nevins, J.R., (1992). Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E2F and the retinoblastoma gene product. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *89*, 4549-4553.

Chow, L.T., Broker, T.R., and Steinberg, B.M. (2010). The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *APMIS* *118*, 422-449.

COURSAGET, P. & TOUZE, A. (2006). Les vaccins contre les papillomavirus.

Culp TD, Christensen ND (2004): Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirus virions. *Virology* *319*: 152-61.

Culp TD, Spatz CM, Reed CA, Christensen ND (2007): Binding and neutralization efficiencies of monoclonal antibodies, Fab fragments, and scFv specific for L1 epitopes on the capsid of infectious HPV particles. *Virology* *361*: 435-46.

Czeglédy, J (2001): Transmission sexuelle et non sexuelle du papillomavirus humain. ; *48* (3-4): 511-7.

D

Day PM, Lowy DR, Schiller JT (2003): Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology* *307*:1-11.

Dell G, Wilkinson KW, Tranter R, Parish J, Leo Brady R, Gaston K (2003): Comparison of the structure and DNA-binding properties of the E2 proteins from an oncogenic and a non-oncogenic human papillomavirus. *J Mol Biol* *334*:979-91.

Desaintes, C., and Demeret, C. (1996). Control of papillomavirus DNA replication and transcription. *Semin. Cancer Biol.* *7*, 339-347.

Diouri, M.K. (2008). Dépistage du cancer du col utérin aux préfectures de rabat et skhirat temara : état des lieux et perspectives. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de maitrise en administration sanitaire et santé publique. Institut national d'administration sanitaire. Maroc. P 19.

Doorbar, J. (2005). The papillomavirus life cycle. *Journal of clinical virology*, *32*, 7-15.

Doorbar, J. (2013). The E4 protein, structure, function and patterns of expression. *Virology*, *445*, 99-114.

Duport, N. (2008). Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. Etat des connaissances. Institut de Veille Sanitaire. Paris. P 5.

Références bibliographiques

Dürst, M., Gissmann, L., Ikenberg, H., and Zur Hausen, H. (1983). A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic region. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *80*, 3812-3815.

Dyson, N. (1998). The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev.* *12*, 2245-2262.

E

Edith, A. et Sylvie, V. (2003). L'infection au virus de papillome humain : recension des écrits et consultation d'experts dans une perspective de santé publique. Institut nationale de santé publique de Québec. ISBN 2-550-41003-3 ; P 22-159.

F

Forget, D. (2010). Cancer du col de l'utérus. Société canadienne du cancer.

G

Grassmann, K., Rapp, B., Maschek, H., Petry, K.U., and Iftner, T. (1996). Identification of a differentiation-inducible promoter in the E7 open reading frame of human papillomavirus type 16 (HPV-16) in raft cultures of a new cell line containing high copy numbers of episomal HPV-16 DNA. *Journal of Virology* *70*, 2339.

Gravitt, P.E. (2011). The known unknowns of HPV natural history. *J. Clin. Invest.* *121*, 4593-4599.

Gavillon, N. Vervaet, H. Derniaux, E. Terrosi, P. Graesslin, O.Quereux, C. (2010). How did incontract human papillomavirus (HPV) ? *Gynécologie obstétrique et fertilité*, *38*, 199-204.

H

Haute Autorité de Santé (HAS). (2010). Guide patient – affection de longue durée. La prise en charge d'un cancer du col de l'utérus.

Hessel, L. (2009). [Introduction of vaccination against human papillomavirus in developing countries: update and perspectives]. *Med Trop (Mars)*, *69*, 323-6.

Huh, K., X., Hayakawa, H., Cho, J.-Y. Libermann, T.A., Jin, J., Harper, J.W., and Munger, K. (2007). Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the cullin 2 ubiquitin ligase complex, which contributes to degradation of the retinoblastoma tumor suppressor. *J. Virol.* *81*, 9737-9747.

I

IARC. (2005) IARC handbooks of cancer prevention Vol. 10: cervix cancer screening. Lyon.

J

Références bibliographiques

Johnson KM, Kines RC, Roberts JN, Lowy DR, Schiller JT, Day PM (2009): Role of heparan sulfate in attachment to and infection of the murine female genital tract by human papillomavirus. *J Virol* 83:2067-74.

Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, Jansen KU, Keller Pm (1999): The La major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem* 274:5810-22.

K

Kjaer, s, Chackerian, b, Van der brule, a, Svare, e, Paull, g, Walbomers, j, Schiller, j, Bock, j, Sherman, m, Lowy, d. & Meijer, c. l. 2001. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *cancer epidemiol biomarkers prev*, 10, 101-6.

Khadiri Lamya. Cancer du col utérin (a propos de 610 cas), 2003.

Khenchouche, A. (2014). Le cancer du col de l'utérus : co-infection par le papillomavirus humain et par l'Epstein-Barr virus. Thèse de doctorat. Biologie Moléculaire. Sétif. Université Ferhat Abbas Sétif 1.145 p.

Klingelutz, A.J., Foster, S.A., and McDougall, J.K (1996). Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature* 380, 79-82.

L

Lanasc, J., Lecomat, P., Merret, H. (2002). Gynécologie. 6^{ème} édition Masson. Paris, France. P591.

Lee, MS. Park, LS. Norwitz, ER., Koo, JM. Oh, IH.Park, JW.Kim, SM.Kim, YH.Park, CW.Song, YS (2013). Risk of Vertical Transmission of Human Papillomavirus throughout Pregnancy: A Prospective Study. *PLoS One*, 8(6), e66368.

Li, X., and Coffino, P. (1996). High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. *J. Virol.* 70, 4509-4516.

Li M, Beard P, Estes PA, Lyon MK, Garcea RL (1998). Intercapsomeric disulfide bonds in papillomavirus assembly and disassembly. *J Virol* 72:2160-7.

Liu, X., Dakic, A., Zhang, Y., Dai, Y., Chen, R., and Sclegel, R. (2009). HPV E6 protein interacts physically and functionally with the cellular telomerase complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 18780-18785.

Liyan Jin et Zhi-Xiang Xu (2015). Progrès récents dans l'étude de la carcinogenèse associée au HPV. *Virol Sin.* 2015 avril ; 30 (2) : 101-106.

Lowe, H. Panda, D. Rose, S. Lensen, T. Hughes, WA. Tso, FY. Angeletti, (2008). Evolutionary and structural analysis of alpha-papillomavirus capsid proteins yields novel insights into L2 structure and interaction with L1. *Virology Journal*, 5 :150.

M

Marianne Naspetti. (2016). Virus HPV – Cancer et immunité.

Références bibliographiques

Monsonegro, J. (2006). Infections à papillomavirus. Etat de connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Editions Springer, Paris. **P195.**

Monsonegro, J. (2007). Prévention traitée des infections et pathologies génitales à papillomavirus. Springer. Paris. France.

Mougin, Ch. Hmbey, O. Gay, C. Riethmuller, D. (2002). Papillomavirus humains, cycle cellulaire et cancer du col de l'utérus. Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction, 29, P13.

McBride, A (2013). The papillomavirus E2 proteins. Virology, 445 (1-2), 57-79.

Moreno V, Bosch FX, Muñoz N, et al. (March 30, 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.

Middleton, K., Peh, W., Southern, S., Griffin, H., Sotlar, K., Nakahara, T., El-Sherif, A., Morris, L., Seth, R., Hibman, M., et al. (2003). Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. J. Virol. 77, 10186-10201.

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.

Mougin, C., Bourgault-Villada, I., and Coursaget, P. (2009). [HPV immunization for the prevention of cervical cancer]. Presse Med 38, 1750-1768.

Mubiayi Ndaye. Histoire du suivi des femmes atteintes d'un cancer invasif du col utérin (Analyse rétrospective de 148 cas (1996-1999)), 2000.

Muñoz N, and Bosch, F.X. (1992). HPV and cervical neoplasia: review of case-control and cohort studies. IARC Sci. Publ. 251-261.

Münger, K., and Howley, P.M. (2002). Human papillomavirus immortalization and transformation functions. Virus Res. 89, 213-228.

Münger, K., Baldwin, A., Edwards, K.M., Hayakawa, H., Nguyen, C.L., Owens, M., Grace, M., and Huh, K. (2004). Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. J. Virol. 78, 11451-11460.

N

Nakahara, T., Nishimura, A., Tanaka, M., Ueno, T., Ishimoto, A., and Sakai, H. (2002). Modulation of the Cell Division Cycle by Human Papillomavirus Type 18 E4. Journal of Virology 76, 10914-10920.

Noël, G., Genestie, C., Votadoro, A., (2002). Cancérologie ; Université Pierre et Marie Curie, Service de radiothérapie. p.124.

O

OMS (2007). La lutte contre le cancer du col de l'utérus. Organisation mondiale de la santé.

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

P

Références bibliographiques

Park, H., Lee, S., Lee, I., Ryu, H., Cho, A., Kang, Y., Hong, S., Kim, S., Seong, S., Shin, S., and Kim, T. (2012). Rate of vertical transmission of human papillomavirus from mothers to infants : relationship between infection rate and mode of delivery. *Virology* 12., 9-80.

Patterson NA, Smith JL, Ozbun MA (2005): Human papillomavirus type 31b infection of human keratinocytes does not require heparan sulfate. *J Virol* 79:6838-47.

Peh, W.L., Middleton, K., Christensen, N., Nicholls, P., Egawa, K., Sotlar, K., Brandsma, J., Percival, A., Lewis, J., Liu, W.J., et al. (2002). Life cycle heterogeneity in animal models of human papillomavirus-associated disease. *J. Virol.* 76, 10401-10416.

R

Ramanakumar, A.V., Goncalves, O., Richardson, H., Tellier, P., Ferenczy, A., Coutlée, F., and Franco, E.L. (2010). Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. *BMC Infectious Diseases* 10, 326.

Rombaldi, R., Serafini, E., Mandelli, J., Zimmermann, E., Losquiavo, K. (2008). Transplacental transmission of Human Papillomavirus. *Virology* J,5,106.

Rouquille, N. (2009). Papillomavirus et cancers associés : données actualisées sur le dépistage, les recommandations et la prophylaxie vaccinale. Thèse du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Joseph Fourier. Faculté de Pharmacie de Grenoble. P63.

S

De Sanjose S, Palefsky J. (November 2002). Cervical and anal HPV infections in HIV positive women and men. *Virus Research* 89(2):201-211).

Sapp M, Day PM (2009). Structure, attachment and entry of polyoma and papillomaviruses. *Virology* 384:400-9.

Scheffner M, Huibregtse JM, RD Vierstra, Howley PM (1993). Les complexes HPV-16 E6 et E6-AP fonctionnent comme une ubiquitine-protéine ligase dans l'ubiquitination de p53. *Cellule ; 75 :* 495-505.

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

Segondy, M. (2008). Classification des papillomavirus (HPV). *Revue francophone des laboratoires.* N°405. P24.

Sherman ME, Schiffman MH, Lorincz AT, Herrero R, Hutchinson ML, Bratti C, Zahnir D, Morales J, Hildesheim A, Helgesen K, Kelly D, Alfaro M, Mena F, Balmaceda I, Mango L, Greenberg M (1997). Cervical specimens collected in liquid buffer are suitable for both cytologic screening and ancillary human papillomavirus testing. *Cancer* 81:89-97.

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.

Snellenber, S., Schütze, D.M., Classen-Kramer, D., Meijer, C.J.L.M., Snijders, P.J.F., and Steebergen, R.D.M. (2012). Methylation status of the E2 binding sites of HPV16 in cervical lesions determined with the Luminex Xmaptm system. *Virology* 422, 357-365.

Stevens, A., Lowe, G. (2002). *Histologie humaine.* Ed : De Boeck. Paris, France. P332.

Références bibliographiques

Stevaux, O., and Dyson, N.J. (2002). A revised picture of the E2F transcriptional network and RB function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14, 684-691.

T

Thorland EC, Myers SL, Persing DH, Sarkar G, McGovern RM, Gostout BS, Smith DI (2000): Human papillomavirus type 16 integration in cervical tumors frequently occur in common fragile sites. *Cancer Res* 60:5916-21.

Tortora Gerard J., Bryan Derrickson. Principes d'anatomie et de physiologie. Ed : De Boeck, 2007 ; 1165-1177p, 1246p.

V

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

W

Walker, F. Borne, H. Darai, E (2001). HPV et lésions cervicales, vaginales et vulvaires. *Le courrier de colo-proctologie (II)*, 2.

Wang, Joshua, W. Richard, BS, Roden (2013). L2, la protéine de capsid mineure du papillomavirus. *Virologie* ; 445 (0) : 175-186.

Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M (2004): Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res* 64:3878-84.

Woodman, C.B.J., Collins, S.I., and Young, L.S. (2007). The natural history of the cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat. Rev. Cancer* 7, 11-22.

Z

Zanier, K., Charbonnier, S., Baltzinger, M., Nominé, Y., Altschuh, D., and Travé, G. (2005). Kinetic analysis of the interactions of human papillomavirus E6 oncoproteins with the ubiquitin ligase E6AP using surface plasmon resonance. *J. Mol. Biol.* 349, 401-412.

Zheng, ZM, et Baker, CC (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and posttranscriptional regulation. *Front Biosci*, 11, 2286-22302.

Ziegert C, Wentzensen N, Vinokurova S, Kisseljev F, Eienkel J, Hoeckel M, von Knebel Doeberitz M (2003). A comprehensive analysis of HPV integration loci in anogenital lesions combining transcript and genome-based amplification techniques. *Oncogene* 22:3977-84.

Zur Hausen H. (2002). *Nature reviews cancer* 2, 342-350. doi: 10.1038/nrc798.

ملخص:

يعد فيروس الورم الحليمي البشري أو فيروس الورم الحليمي البشري أحد أخطر مسببات الأمراض المنقولة جنسياً. من أجل منع العدوى التي يسببها هذا النوع من الفيروسات من أن تصبح أكثر خطورة والتسبب في آفات سرطانية أو سرطان عنق الرحم، من الضروري اكتشافها في وقت مبكر. وتجدر الإشارة إلى أن سرطان عنق الرحم يمثل مشكلة صحية عامة كبرى في جميع أنحاء العالم، والتي تزداد أهمية في البلدان ذات المستوى المنخفض من التنمية الاقتصادية والاجتماعية. يتم تشخيص حوالي 569847 حالة جديدة كل عام في جميع أنحاء العالم، مما يضع هذا النوع من السرطان في المرتبة الثالثة في العالم من حيث الأسباب الرئيسية لسرطان الإناث. فيما يتعلق بمعدل الوفيات، تحدث حوالي 311365 حالة وفاة كل عام.

في هذا العمل، أجرينا دراسة بأثر رجعي تم إجراؤها على مجموعة من 5022 مريضاً موزعين على وحدات ومختبرات الخلايا المختلفة في ولاية تيبازة. الهدف من الدراسة هو تقييم استراتيجيات وفعالية فحص سرطان عنق الرحم والآفات محتملة التسرطن. قمنا أيضاً بمقارنة المادة الجينية لبروتينات مختلفة من الأورام من أنواع فيروس الورم الحليمي 16 و18 لفهم الاختلافات بينهما بشكل أفضل.

أظهرت الدراسة الإحصائية أن الفحص يكون أكثر كثافة عند النساء المنتميات إلى الفئات العمرية [44-40] سنة و [49-45] سنة بنسب 16.66% و 26.86% على التوالي. الأفراد الأكثر تضرراً من الإصابة بفيروس الورم الحليمي البشري تتراوح أعمارهم بين [44-40] سنة و [49-45] سنة بنسب 19.31% و 23.29% على التوالي. أخيراً، سمحت لنا هذه النتائج بالتوصل إلى استنتاج مفاده أن الفحص يجب أن يتم في وقت مبكر، لأن سرطان عنق الرحم يتم تشخيصه بشكل عام من سن الأربعين، وهو وقت متأخر جداً للعلاج الفعال.

الكلمات المفتاحية: فيروس الورم الحليمي البشري، فيروس الورم الحليمي البشري، سرطان عنق الرحم، الفحص، الآفات السرطانية

Résumé :

Le papillomavirus humain ou HPV est l'un des agents pathogènes sexuellement transmissibles des plus dangereux, qu'il est nécessaire de le dépister plus tôt. Il faut savoir que dans le monde, le cancer du col de l'utérus représente un problème de santé publique majeur, qui est d'autant plus important dans les pays à niveau de développement bas. Environ 569,847 de nouveaux cas sont diagnostiqués tous les ans dans le monde. En ce qui concerne son taux de mortalité, environ 311,365 de décès ont lieu chaque année.

Dans ce travail, nous avons effectué une étude rétrospective qui a été réalisée sur un ensemble de 5022 patientes réparties sur différentes unités et laboratoires de cytologie dans la wilaya de Tipaza. L'objectif de l'étude est d'évaluer les stratégies et l'efficacité du dépistage du cancer du col de l'utérus et des lésions précancéreuses. Nous avons également comparé le matériel génétique des différentes protéines oncogènes des types de papillomavirus 16 et 18 afin de mieux comprendre leurs différences.

L'étude rétrospective a démontré que le dépistage est plus dense chez les femmes appartenant aux tranches d'âge [40-44] ans et [45-49] ans avec des pourcentages de 16.66% et 26,86% respectivement. Les individus les plus touchés par l'infection à HPV sont situés entre [40- 44] ans et [45- 49] ans avec des pourcentages de 19.31% et 23.29% respectivement. Enfin, ces résultats nous ont permis d'arriver à la conclusion que le dépistage devrait se faire plus tôt, car généralement le cancer du col de l'utérus est diagnostiqué à partir de 40 ans, ce qui est assez tardif pour un traitement efficace.

Mots clés : papillomavirus humain, HPV, cancer du col de l'utérus, dépistage, lésions précancéreuses.

Summary :

The human papillomavirus or HPV is one of the most dangerous sexually transmitted pathogens, it is necessary to detect it earlier. Cervical cancer is a major global public health problem, which is especially important in countries with low levels of development. Approximately 569,847 new cases are diagnosed each year worldwide, making it the third leading cause of cancer in women worldwide. In terms of mortality rate, approximately 311,365 deaths occur each year.

In this work, we have carried out a retrospective study on a set of 5022 patients distributed over different units and cytology laboratories in the wilaya of Tipaza. The objective of the study is to evaluate the strategies and effectiveness of cervical cancer and precancerous lesions screening. We also compared the genetic material of different oncogenic proteins of papillomavirus types 16 and 18 in order to better understand their differences.

The statistical study showed that screening is denser in women in the [40-44] and [45-49] age groups with percentages of 16.66% and 26.86% respectively. The individuals most affected by HPV infection are between [40-44] and [45-49] years old with 19.31% and 23.29% respectively. Finally, these results allowed us to conclude that screening should be done earlier, as cervical cancer is usually diagnosed from the age of 40 onwards, which is quite late for effective treatment.

Key words: human papillomavirus, HPV, cervical cancer, screening, precancerous lesions.