

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie

*Laboratoire de Microbiologie appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
l'Environnement (LAMAABE)*

MEMOIRE

Présenté par

BENMANSOUR Dounia

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En BIOLOGIE

Option : MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE

Thème

**Étude du profil épidémiologique des cancers
cutanés au service d'Épidémiologie
et recherche d'HPV par PCR**

Soutenu le 27 juin 2017, devant le jury composé de :

Présidente	MALEK F.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	CHABNI N.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	BENMANSOUR M.	Maître de conférences B	Université de Tlemcen
Encadreur	BOUBLENZA L.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2016-2017

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mon frère Khaled qui n'a cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité.

Mes sœurs Ghizlene et Fatima Zohra pour leur aide sans limite, ses encouragements et leur présence constante.

La mémoire de mes grands-pères Zoubir et Abd el kader, et mes grands-mères Rabiaa et Fatima.

Toute la famille BENMANSOUR et BOUACHERA.

Mes professeurs qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.

Tous mes chers qui m'ont tant apporté.

Enfin, à tous les gens qui souffrent du cancer de peau que dieu les guérisse.

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience afin d'accomplir ce modeste travail.

J'adresse le grand remerciement à mon encadreur de mémoire :

Dr. L. BOUBLENZ, maitre de conférences classe A à l'université de Tlemcen.

Je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance pour votre précieuse attention et l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de diriger mon travail, et pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Que vous trouvez dans ce travail un hommage vivant à votre haute personnalité. Que votre compétence professionnelle, et vos nobles qualités humaines soient pour moi le meilleur exemple à suivre.

Je tiens également à remercier mesdames les membres de jury pour l'honneur qu'elles m'ont fait en acceptant de siéger à ma soutenance, tout particulièrement :

Dr. F. MALEK, maitre de conférences classe A à l'université de Tlemcen.

Je vous remercie pour l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider le jury de cette mémoire. Je vous remercie d'avoir partagé avec nous votre passion pour l'enseignement et d'avoir enrichi nos connaissances. J'ai grandement apprécié votre soutien, votre implication et votre expérience.

Dr. N. CHABNI, maitre de conférences classe A à l'université de Tlemcen.

Je souhaite exprimer ma gratitude pour avoir fait partie de mon jury et d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je vous remercie de m'avoir accepté dans le service d'Épidémiologie. Merci de m'avoir permis d'accéder aux données épidémiologiques des cancers cutanés. Veuillez trouver ; ici ; Docteur l'expression de mes sincères remerciements pour votre bienveillance au sein du service.

Dr. M. BENMANSOUR, maitre de conférences classe B à l'université de Tlemcen.

Vous avez accepté de faire partie de mon jury et d'avoir accepté d'examiner ce travail. Je vous remercie pour vos précieux conseils et remarques, et je vous remercie pour votre qualité d'enseignement ainsi que votre patience.

Dr. N. MESDOUA

Je vous remercie pour votre patience, votre disponibilité, votre culture scientifique que vous avez partagée avec nous, et vos qualités humaines.

Enfin, je remercie tous mes professeurs qui ont contribué à ma formation.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES FIGURES

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES PAPILLOMAVIRUS HUMAINS

1. Famille des papillomavirus	4
2. Classification des papillomavirus	4
3. Organisation structurale et génomique.....	5
4. Transmission	7
5. Cycle de multiplication virale.....	7
6. Évolution de l'infection.....	9
7. Carcinogenèse	10
8. Réponse immunitaire.....	10

CHAPITRE II : LES LÉSIONS CUTANÉES ASSOCIÉES AUX HPV

1. Généralités.....	13
2. Rappels sur le tissu cutané.....	14
3. Les lésions cutanées bénignes	15
3.1. Les verrues	15
3.1.1. Les verrues vulgaires ou communes	16
3.1.2. Les verrues plantaires.....	16
3.1.3. Les verrues planes	17
3.1.4. Les verrues périunguéales ou sous-unguéales	17
3.1.5. Les verrues du boucher.....	17
3.1.6. Les verrues filiformes ou multidigitées.....	17
4. Déficit immunitaire génétique.....	18
4.1. Épidermodysplasie verruciforme (EV) ou syndrome de Lutz-Lewandowsky	18
5. Les lésions cutanées précancéreuses	18
5.1. Kératoses actiniques (KA)	18
5.2. La maladie de Bowen (MB).....	19
6. Les cancers cutanés.....	19
6.1. Mélanomes cutanés	19
6.2. Carcinomes cutanés	20
6.2.1. Les carcinomes basocellulaires (CBC).....	20

6.2.2. Les carcinomes spinocellulaires ou épidermoïdes (CE)	20
6.3. Facteurs de risque des cancers cutanés non mélaniques	21
7. Cancers cutanés chez les Transplantés d'organes.....	21
8. Cancers cutanés chez les patients séropositifs au VIH (le virus de l'immunodéficience humaine).....	22
9. Traitements.....	23
CHAPITRE III : MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV	
1. Généralités.....	24
2. Détection qualitative du génome HPV	25
2.1. Détection des HPV à haut risque, sans précision du type	25
2.1.1. L'hybridation in situ (HIS).....	25
2.1.2. La technique FISH.....	25
2.1.3. Hybridation en phase liquide	25
2.1.4. PCR (Polymerase Chain Reaction).....	26
2.1.5. Amplicor HPV Test ® (Roche Diagnostics).....	27
2.2. Technique de génotypage des HPV	28
2.2.1. Génotypage par séquençage	29
2.2.2. Génotypage par puce à ADN	29
2.2.3. Génotypage par la technologie Luminex®	30
3. Détection quantitative du génome HPV	30
4. Détection des ARNm des HPV	31
5. Apport de la p16 INK4A	31

PARTIE PRATIQUE

I. MÉTHODOLOGIE

1. Étude du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen.....	33
1.1. Objectifs.....	33
1.1.1. Objectif principal.....	33
1.1.2. Objectifs spécifiques	33
1.2. Type de l'étude	33
1.3. Population cible	33
1.4. Source d'information	33
1.5. Analyse des données	34
2. Recherche d'HPV à partir des lésions cutanées	34
2.1. Objectif	34

2.2. Lieu d'étude	34
2.3. Matériel et méthodes.....	34
2.3.1. Prélèvement.....	34
2.3.2. Déparaffinage	35
2.3.3. Détection d'HPV par PCR conventionnelle.....	35
2.3.4. Le test amplicor® HPV haut risque	38

II. RÉSULTATS

1. Résultats de l'étude du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen.....	43
1.1. Répartition des cancers cutanés par année.....	43
1.2. Répartition selon l'âge des patients	43
1.3. Répartition selon le sexe des patients	44
1.4. Répartition des cancers cutanés Selon la morphologie.....	44
1.5. Répartition des cancers cutanés Selon la localisation de la tumeur.....	45
1.6. Répartition des cancers cutanés Selon le stade de diagnostic.....	46
1.7. Répartition selon la base de diagnostic.....	46
2. Résultats de la recherche d'HPV à partir des cancers cutanées par technique de PCR classique et test Amplicor® HPV.....	47

III. DISCUSSION

1. Discussion du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen.....	49
2. Discussion de la recherche d'HPV à partir des cancers cutanés	51

CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54
---	-----------

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	57
---	-----------

ANNEXES	
----------------	--

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ARN: Acide RiboNucléique

BET: Bromure d'ETHidium

CBC : Carcinomes Basocellulaires

CE : Carcinomes Epidermoïdes

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CRPV : Cottontail Rabbit Papillomavirus

DMF : DiMéthylFormamide

dNTP : DésoxyNucléotides-Tri-Phosphates

DO : Densité Optique

E : Early (gène précocose)

EDTA : EthylenDiaminTetraacetic Acid

EV : Épidermodysplasie verruciforme

FISH : Hybridation In Situ en technique Fluorescente

HIS: hybridation In Situ

HLA: Human Leukocyte Antigen

HPV BR : HPV à Bas Risque

HPV HR : HPV à Haut Risque

HPV RI : HPV à Risque Inconnu

HPV : Human Papilloma Virus

IARC : Agence Internationale de Recherche sur le Cancer

IST : Infections Sexuellement Transmissibles

KA : Kératoses actiniques

L : Late (gène tardif)

LAMAABE : Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, Au Biomédical et à l'Environnement

LCR : Long Control Region

MB : Maladie de Bowen

MQ : Mix de QIAGEN®

NMSC : Carcinomes cutanés Non Mélaniques

OMS : Organisation Mondial de la Santé

ORF: Open Reading Frame

P53: Protéine 53

PAL : Phosphatase Alcaline

Pb : paire de base

PCR : Polymerase Chain Reaction

PK : Protéinase K

pRB : protéine du RetinoBlastome

SAI : Sans Aucune Indication

TAE: Tampon tris Acétate EDTA

Taq polymerase: *Thermus aquaticus* polymérase

TLR 9: Toll Like Receptor 9

TMB: TétraméthylBenzidine

URR: Upstream Regulatory Region

UV : rayonnement UltraViolet

VADS : Voies Aéro-Digestives Supérieures

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des tableaux

Tableau 1 : Manifestations cliniques des principaux types d'HPV cutanés et muqueux	5
Tableau 2 : Propriétés biologiques des protéines des papillomavirus à haut risque.....	6
Tableau 3 : Prévalence des HPV cutanés dans la peau saine et les lésions de sujets immunocompétents et immunodéprimés.....	14
Tableau 4 : Lésions cutanées bénignes à HPV	16
Tableau 5 : Génotypage des HPV dans des cancers de différentes localisations.....	48

Liste des figures

Figure 1 : Représentation d'une particule virale de HPV	5
Figure 2 : Structure génomique d'HPV 16.....	6
Figure 3 : Représentation du cycle viral le long d'un épithélium stratifié kératinisé	8
Figure 4 : Persistance, clairance et progression des infections à HPV à haut risque	9
Figure 5 : Physiopathologie de l'infection et réponse immune naturelle au cours de l'infection par un HPV	12
Figure 6 : structure de la peau et de l'épiderme	15
Figure 7 : Représentation schématique des différentes étapes des techniques de détection et de génotypage des HPV.....	24
Figure 8 : Hybridation en phase liquide	26
Figure 9 : Détection immunoenzymatique des amplicons HPV	28
Figure 10 : Génotypage par puce à ADN	30
Figure 11 : Dépôt de l'échantillon.....	38
Figure 12 : Répartition des cancers cutanés entre l'année 2012 et 2016	43
Figure 13 : Répartition des cancers cutanés selon les tranches d'âge	44
Figure 14 : Répartition selon le sexe des cancers cutanés entre 2012 et 2016.....	44
Figure 15 : Répartition des cancers cutanés selon la morphologie	45
Figure 16 : Répartition des cancers cutanés selon la localisation de la tumeur	45
Figure 17 : Répartition des cancers cutanés selon le stade de diagnostic	46
Figure 18 : Répartition des cancers cutanés selon la base de diagnostic	46
Figure 19 : La méduse d'ADN obtenu après extraction.....	47
Figure 20 : profil d'électrophorèse après l'amplification par PCR sous UV.....	47

INTRODUCTION

À travers le monde, le nombre de nouveaux cas de cancers (toutes localisations confondues) est de l'ordre de 13 millions/an (**Segondy, 2013**), Selon le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), environ deux millions de nouveaux cas de cancer survenant annuellement sont attribuables à des infections (**De Martel et al., 2012**). Il est estimé que plus de 600 000 de ces cancers, environ 5 à 10 % de la population est infectée par un Human Papilloma Virus (HPV) [(**Segondy, 2013**) ; (**Badoual et al., 2015**)].

Les HPV sont des virus qui infectent la peau et les muqueuses, plus précisément les épithéliums malpighiens (**Louie et al., 2008**). Le rôle de ces virus dans la genèse du cancer du col a été depuis clairement établi. Le rôle de ces virus a été aussi démontré dans d'autres cancers ano-génitaux, ainsi que dans des cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS). Certains types d'HPV paraissent également jouer un rôle dans le développement de cancers cutanés (**Segondy, 2013**).

De nombreux types d'HPV peuvent être retrouvés dans la peau normale, en particulier au niveau des follicules pileux, ainsi que dans des lésions cutanées bénignes (verrues) ou malignes (**Louie et al., 2008**).

Les lésions malignes de la peau se divisent en deux sous-groupes principaux, les mélanomes malins et les carcinomes et en particulier les carcinomes basocellulaires et les spinocellulaires. L'implication du virus HPV dans la cancérogenèse des mélanomes n'a pas pour l'instant été prouvée, même si la présence de ce virus a été identifié dans ces lésions (**Hsieh et al., 2009**). Certains génotypes HPV ont été associés à des cancers de la peau non mélanomes, et l'implication de ce virus dans la tumorigenèse a été étudiée. Cependant, l'implication d'HPV (le plus souvent des carcinomes basocellulaires) dans le développement de carcinomes cutanés est très diverse, plurifactorielle et nécessite d'être clarifiée. Les patients atteints d'épidermodysplasie verruciforme de Lutz-Lewandowsky, caractérisée par la présence de très nombreuses lésions liées à une infection par HPV, sont particulièrement étudiés. 30 à 60 % de leurs lésions viro-induites se transforment en lésions tumorales malignes, autres que des mélanomes, dans les zones exposées au soleil (**Badoual et al., 2015**).

Les premières lésions précancéreuses se manifestent précocement sur les zones photoexposées, sous forme de kératoses actiniques et de maladie de Bowen (**Aubin et al., 2014**).

L'étude de ces virus a été longtemps limitée par la quasi-impossibilité de les cultiver *in vitro*, et ce n'est qu'à partir des années 1980 que le développement des techniques de biologie moléculaire a permis de mettre en évidence la place importante de ces virus en pathologie humaine, en particulier dans la survenue de certains cancers (**Aubin *et al.*, 2014**). Plusieurs types de test sont actuellement disponibles. Toutes les techniques moléculaires de détection des HPV reposent sur le principe de l'hybridation, avec amplification ou non. Les techniques d'amplification génique ou Polymerase Chain Reaction (PCR), qui nécessitent une faible quantité d'ADN cible au départ. C'est une méthode sensible et relativement rapide. La mise en place de ces techniques nécessite, dans les laboratoires, des locaux adaptés et la formation des techniciens (**Debaque et Eide, 2012**).

Ce mémoire, est composé en premier lieu de la littérature relative au papillomavirus humain et aux lésions cutanées, ainsi que les méthodes de détection de ce virus.

Dans un deuxième lieu, nous allons décrire l'évaluation du profil épidémiologique des cancers cutanés au niveau du service d'Épidémiologie - CHU Tlemcen entre 2012 et 2016. Par ailleurs, une détection de la présence des HPV dans des cancers de la peau dans une région de l'ouest Algérien sera réalisée par la méthode de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et le test Amplicor HPV haut risque.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

1. Famille des papillomavirus

Les papillomavirus appartiennent à la grande famille des *Papillomaviridae*. Se sont des virus ubiquitaires, responsables de tumeurs bénignes et malignes chez l'homme et chez l'animal, avec une spécificité d'espèce étroite (**Alain et al., 2010**). Beaucoup d'espèces animales abritent des papillomavirus telles que les bovins, les caprins, les équins, les rongeurs, les reptiles et les oiseaux (**Monsonogo, 2007**). Chez l'homme, on parle de *Human Papillomavirus* ou HPV (**Alain et al., 2010**), ces virus sont strictement épithéliotropes et les 130 génotypes classiquement décrits sont classés selon leur niveau de risque oncogène (**Badoual et al., 2015**).

2. Classification des papillomavirus

Leur classification, basée sur le génotype et l'analyse phylogénique, permet de les différencier en fonction de leur tropisme (cutanés ou muqueux), de leur propriété biologique et de leur potentiel oncogénique (bas risque et haut risque) (**Beby-Defaux et al., 2015**). La classification de l'Agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) permet de distinguer :

- Les sous-types à haut risque oncogène (HPV HR) : HPV16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, impliqués dans la tumorigenèse de certains carcinomes, en particulier épidermoïdes ;
- Les sous-types à bas risque oncogène (HPV BR) : HPV6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 62, 64, 71, 74, 81, 83, 84 et CP6108 qui sont associés à des lésions cutanées ou muqueuses (essentiellement des condylomes ou des verrues) ;
- Le reste des sous-types compose un troisième groupe à risque inconnu (HPV RI) (**Badoual et al., 2015**).

Parmi les HPV cutanés les plus fréquents, les HPV 1, 2, 3, 4 ou 10 sont responsables de verrues plantaires et palmaires. Les HPV 5 et 8 sont eux majoritairement retrouvés chez des patients atteints d'une génodermatose rare, l'épidermodysplasie verruciforme. Parmi les HPV muqueux les plus fréquents, les HPV dits à bas risque oncogène = HPV-BR (HPV 6, 11) sont responsables de lésions anogénitales bénignes telles que les condylomes acuminés ou verrues génitales et les HPV à haut risque oncogène = HPV-HR (HPV 16, 18) sont associés aux lésions pré-cancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus (**Tableau 1**) (**Monsonogo, 2006**).

LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

Tableau 1 : Manifestations cliniques des principaux types d'HPV cutanés et muqueux (Monsonogo, 2006)

		Types d'HPV les plus fréquents	Autres types d'HPV moins fréquents	Expression Clinique
HPV cutanés		1, 2, 3, 4, 10	26 à 29, 38, 41	Verrues plantaires
		5, 8	9, 10, 12, 14, 15, 17, 19 à 25	Epidermodysplasie verruciforme
		5, 8, 14, 17, 20		Carcinomes épidermoïdes
HPV muqueux	HPV-BR	6, 11	42 à 45	- Condylomes acuminés - Papillomes laryngés, buccaux, conjonctivaux
	HPV-HR	16, 18	31, 33, 35, 39,45, 51, 52, 56,58, 59, 66, 68	- Cancer du col utérin et lésions précurseurs - Carcinomes : pénis, vulve, vagin, anus

3. Organisation structurale et génomique

Les papillomavirus sont des virus nus de petite taille. Ils possèdent une capside icososaédrique (**Figure 1**) d'environ 55nm de diamètre, constituée de 72 capsomères (**Alain et al., 2010**).

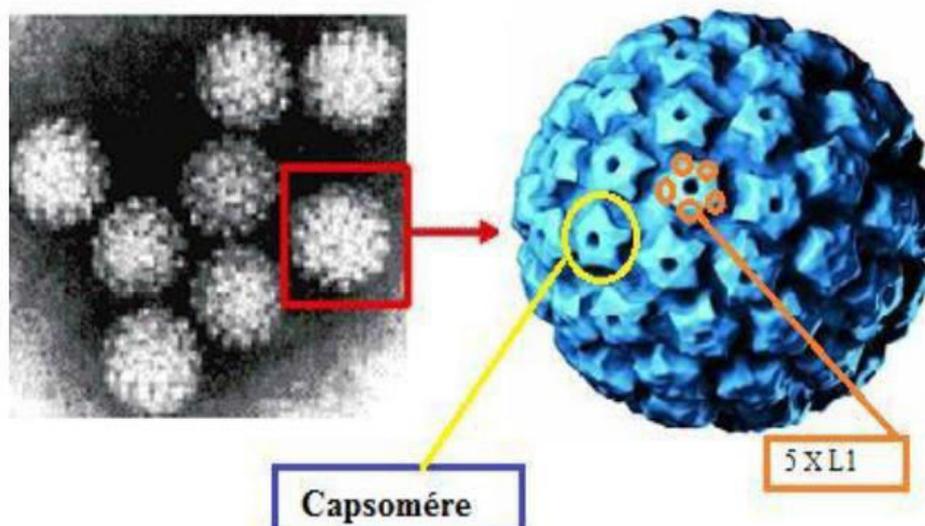


Figure 1 : Représentation d'une particule virale de HPV (Bousarghin et al., 2009)

Le génome viral est constitué d'un ADN bicaténaire circulaire, super-enroulé, d'environ 8000 paires de bases. Les séquences codant les protéines virales (**Tableau 2**) sont regroupées sur un seul brin d'ADN en phases ouvertes de lecture (*open reading frame*, ORF). Les ORF sont groupées en trois régions génomiques distinctes (**Figure 2**):

LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

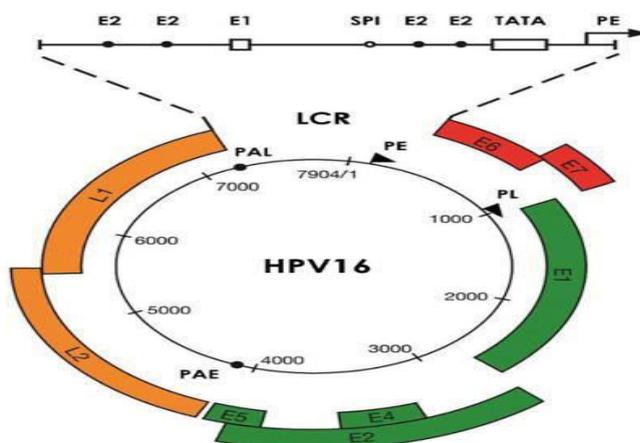


Figure 2 : Structure génomique d'HPV 16 (Doorbar et al., 2012)

- Une région précoce E (Early) codant pour des protéines non structurales (E1, E2, E4, E5, E6 et E7) ;
- Une région tardive L (Late) codant pour les protéines structurales (L1, L2) composant la capside ;
- Une région régulatrice LCR (Long Control Region) ou URR (Upstream Regulatory Region), comportant des sites de fixation pour de nombreux facteurs de transcription cellulaire ainsi que pour certaines des protéines précoces régulant la réplication virale (Doorbar et al., 2012).

Tableau 2 : Propriétés biologiques des protéines des papillomavirus à haut risque [(Monsonogo, 2006) ;(Monsonogo, 2007)]

Protéine	Fonction
E1	Activation de la réplication de l'ADN viral
E2	Localisation nucléaire: - Activation de la réplication de l'ADN viral en synergie avec E1 - Répression de la transcription de E6 et E7
	Localisation cytoplasmique
E3	Pas de fonction connue
E4	Maturation des virions, facilite l'encapsidation du génome
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire
E6	Protéine oncogène : favorise la dégradation de p53 par le protéasome
E7	Protéine oncogène : favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p105Rb
E8	Pas de fonction connue
L1	Protéine majeure de capsid
L2	Protéine mineure de capsid

4. Transmission

L'infection par un HPV peut se transmettre, via différents contacts, à travers les micro-abrasions de l'épiderme ou des muqueuses.

La transmission se fait par contact direct avec des revêtements cutanés ou muqueux lésés, du sujet lui-même (l'auto-inoculation des verrues est favorisée par le grattage) ou d'une autre personne atteinte (hétéro-inoculation) (**Agius, 2006**).

Elle peut également être indirecte, par contact avec des objets (vêtements, serviettes de toilette, drap...) et surfaces contaminés (piscines et douches favorisent la propagation des verrues plantaires). La transmission via les lésions ano-génitales se fait, quant à elle, principalement par voie sexuelle, plaçant les infections à HPV parmi les 3 plus fréquentes infections sexuellement transmissibles (IST) avec l'herpès génital et les infections à *Chlamydia trachomatis* (**DGS-CTV, 2008**).

La transmission oro-génitale est également démontrée. Tout acte sexuel sans pénétration est aussi associé à un risque d'infection par les HPV chez les femmes vierges (moins de 2 % des cas) (**Gavillon et al., 2010**).

Une transmission de la mère à l'enfant lors de l'accouchement par voie naturelle a été décrite, pouvant notamment être à l'origine de papillomes laryngés chez l'enfant infecté. Il s'agit le plus souvent des sous-type 11 et 6, faiblement oncogènes, cependant chez certains enfants on peut exceptionnellement observer des lésions dues à des HPV HR, en particulier l'HPV16 ou HPV18 (**Badoual et al., 2015**).

5. Cycle de multiplication virale

Les HPV infectent les cellules épithéliales des couches basales des muqueuses ou des épidermes (**Zur Hausen, 2002**).

Leur cycle de réplication est lié à la différenciation des kératinocytes. Les particules virales infectieuses atteignent les cellules souches des couches basales suite à des microlésions de la muqueuse entraînant une rupture de l'épithélium stratifié (**Doorbar, 2005**). Le virus est alors internalisé par endocytose puis décapsidé et l'ADN viral est transloqué au niveau du noyau de la cellule via la protéine mineure de capsid L2. Le génome viral est ainsi maintenu présent à un taux faible d'une centaine de copies sous forme d'épisomes, sans intégration dans le génome de la cellule hôte, grâce aux protéines précoces E1 et E2.

LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

La réplication du génome viral est liée à la réplication du génome cellulaire : le génome viral se réplique avec l'ADN cellulaire au cours de la phase S (Doorbar, 2006). Il s'agit du cycle non productif.

Les cellules filles migrent ensuite vers la couche suprabasale et entament le processus de différenciation. Les cellules suprabasales infectées par l'HPV peuvent à nouveau entrer en cycle, contrairement aux cellules normales, et ainsi permettre la poursuite de la réplication de l'ADN viral (Mougin *et al.*, 2008). 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 couches les plus superficielles, Les deux protéines de structure L1 et L2 sont exprimées uniquement dans les cellules exprimant E4 (Modis *et al.*, 2002). Les virions matures et infectieux sont alors libérés au cours du processus de desquamation et les risques de transmission à un partenaire sont possibles (Figure 3) (Monsonogo, 2006). C'est le cycle productif.

Ce cycle est valable aussi bien pour les papillomavirus de haut risque que pour les papillomavirus de bas risque.

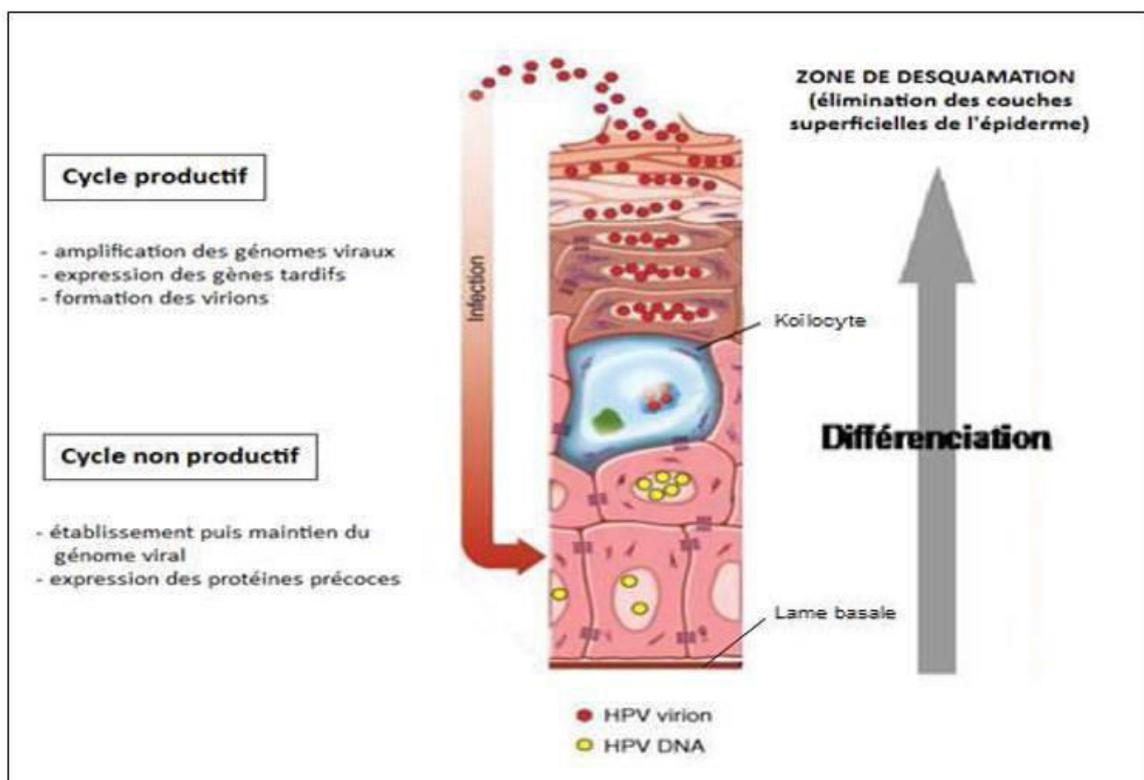


Figure 3 : Représentation du cycle viral le long d'un épithélium stratifié kératinisé (Aubin *et al.*, 2003)

6. Évolution de l'infection

L'infection par le papillomavirus humain peut évoluer selon deux modes : clairance virale ou latence virale.

La clairance de l'infection est environ deux fois plus rapide pour les HPV à bas risque que pour les HPV à haut risque (**Moscicki *et al.*, 2010**). Parmi ces derniers, l'HPV16, 18, 31 et 33 présentent les clairances les plus faibles et donc les éliminations les plus tardives (**Bulkmans *et al.*, 2007**).

Quel que soit le type d'HPV, la clairance est élevée dans les premiers mois de l'infection et elle diminue avec le temps et s'observe en 3 à 6 mois pour les HPV BR et en 12 à 18 mois pour les HPV HR. L'ADN viral persiste alors dans les cellules de la lame basale sans se répliquer, ni s'intégrer au génome cellulaire. L'infection devient « silencieuse », on parle de latence virale (**Baldauf *et al.*, 2013**).

Les mécanismes responsables de la clairance virale semblent impliquer le système immunitaire de l'hôte. Ainsi, ces réponses immunes seraient moins efficaces vis-à-vis des HPV à haut risque, favorisant leur persistance (**Kanodia *et al.*, 2007**).

Cependant dans certains cas, l'ADN viral peut persister sous forme épisomale à l'état latent et, soit évoluer vers une infection productive lors d'une réactivation, soit s'intégrer au génome cellulaire et entraîner par la suite des lésions cancéreuses. Seule la persistance des infections à HPV à haut risque est susceptible de développer des lésions précancéreuses et cancéreuses et plus la durée est longue, plus le risque de progresser vers un cancer est élevé (**Figure 4**) (**Clavel *et al.*, 2008**).

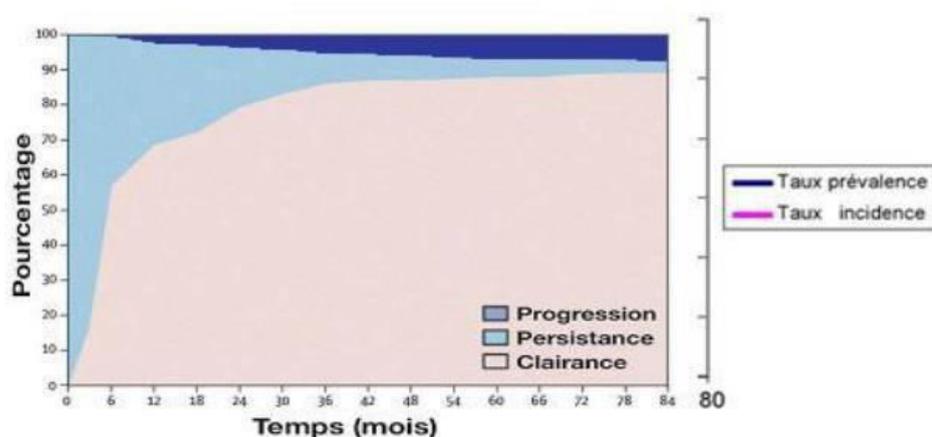


Figure 4 : Persistance, clairance et progression des infections à HPV à haut risque (Clavel *et al.*, 2008)

7. Carcinogénèse

Le mécanisme oncogénique central est porté par les protéines virales E6 et E7 et va dépendre de l'intégration du génome HPV à haut risque dans le génome de l'hôte.

En cas d'intégration du génome HPV au génome de la cellule hôte, la région E2 est clivée induisant une levée de l'inhibition exercée par la protéine virale E2 sur l'expression des protéines E6 et E7.

La surexpression de ces deux protéines oncogéniques conduit à une dérégulation du cycle cellulaire et donc à l'immortalisation des cellules. Tous ces événements conduisent à la transformation de la cellule épithéliale infectée.

La protéine virale E7 se lie à la protéine du rétinoblastome pRb et conduit à sa dégradation par le protéasome (**Badoual *et al.*, 2015**). E2F est alors relarguée dans le cytoplasme, libre de transloquer dans le noyau où elle va activer la transcription de gènes requis pour l'activation du passage de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire (**Guihard *et al.*, 2012**).

La protéine virale E6, quant à elle, se lie à p53 qui est pro-apoptotique ; une fois dégradée, p53 ne peut plus exercer son rôle de « garde-fou », ceci pouvant conduire à l'immortalisation de la cellule.

La protéine E5 semble aussi jouer un rôle dans ce processus de transformation tumorale. Cette protéine, capable d'induire la transformation des fibroblastes et kératinocytes de rongeurs (**Badoual *et al.*, 2015**). D'autre part, il a été montré que la protéine E5 est capable d'altérer l'expression des molécules CMHI à la surface des cellules épithéliales infectées (**Ashrafi *et al.*, 2005**) ; ceci ayant pour conséquence une diminution de la réponse cellulaire anti-HPV médiée par les lymphocytes T CD8 cytotoxiques et à l'origine de la clearance du virus.

Le pouvoir oncogène des génotypes à haut risque ne semble donc pas uniquement reposer sur des propriétés virales propres mais aussi sur des caractéristiques inhérentes à l'hôte (**Badoual *et al.*, 2015**).

8. Réponse immunitaire

La réponse immune contre les HPV au niveau des épithéliums est peu efficace. Les kératinocytes sont de mauvaises cellules présentatrices d'antigènes et les cellules dendritiques sont peu nombreuses.

LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

Le déroulement intraépithélial du cycle viral, peu lytique avec une faible production des protéines virales et un relargage des virions uniquement en surface de l'épithélium, ainsi que l'absence de virémie, exposent peu le virus au système immunitaire, en particulier aux cellules de Langerhans et aux cellules dendritiques. La production de cytokines pro-inflammatoires est donc peu ou pas stimulée, ce qui favorise un état de tolérance immunitaire **(Alain *et al.*, 2010)**.

Enfin, les protéines E6 et E7, diminuent l'expression des récepteurs de surface de type TLR 9 (Toll Like Receptor 9), reconnaissant les ADN viraux. S'y associent l'inhibition du système interféron par les protéines E6 et E7, la diminution par la protéine E5 de la présentation des antigènes par les molécules HLA (human leukocyte antigen) de classe II, favorisent l'échappement immunologique **[(Howley et Lowy, 2007) ;(Frazer, 2007) ; (Einstein *et al.*, 2009)]**.

La réponse immune est donc modérée et retardée, ce qui favorise l'installation et la persistance de l'infection. Plusieurs observations illustrent l'importance des réponses cellulaires : ainsi l'élimination d'une verrue conduit à l'élimination des autres verrues, probablement par stimulation de l'immunité par les virions relargués. Les traitements stimulant la réponse immunitaire T locale tels que l'imiquimod ont montré une efficacité dans le traitement des lésions cutanées et muqueuses **(Winters *et al.*, 2008)**.

L'altération des défenses immunitaires cellulaires, physiologique (grossesse, ménopause) ou acquise (infection par le VIH, transplantation) augmente la persistance et la fréquence, non seulement des infections HPV à haut risque oncogène, mais aussi des infections bénignes, condylomes ou lésions cutanées **[(Mansour, 2005) ;(Palefsky, 2009)]**. Dans les modèles animaux comme chez l'Homme, les réponses cytotoxiques sont faibles ou indétectables dans les lésions cancéreuses. Au contraire, la régression des lésions est associée à une réponse cytotoxique et T helper intense, dirigée contre les protéines E1, E2, E6, E7 et L2 **[(Howley et Lowy, 2007) ;(Einstein *et al.*, 2009)]**.

La réponse humorale naturelle, dirigée contre plusieurs protéines virales (E6, E7, E2, L1 L2), est peu intense, avec des taux d'anticorps circulant beaucoup plus faibles que ceux obtenus par la vaccination, y compris vis-à-vis de L1 protéine constitutive majeure du virion, et donc exposée au système immunitaire.

Lors de l'immunisation naturelle ou après administration de vaccins prophylactiques, les anticorps neutralisants, essentiellement dirigés contre L1, bloquent les sites de fixation

LES PAPILOMAVIRUS HUMAINS

du virus. Ils peuvent, dans le cas d'une porte d'entrée muqueuse, agir soit par transsudation soit par exsudation, au niveau de microlésions de l'épithélium (**Figure 5**) (Alain *et al.*, 2010).

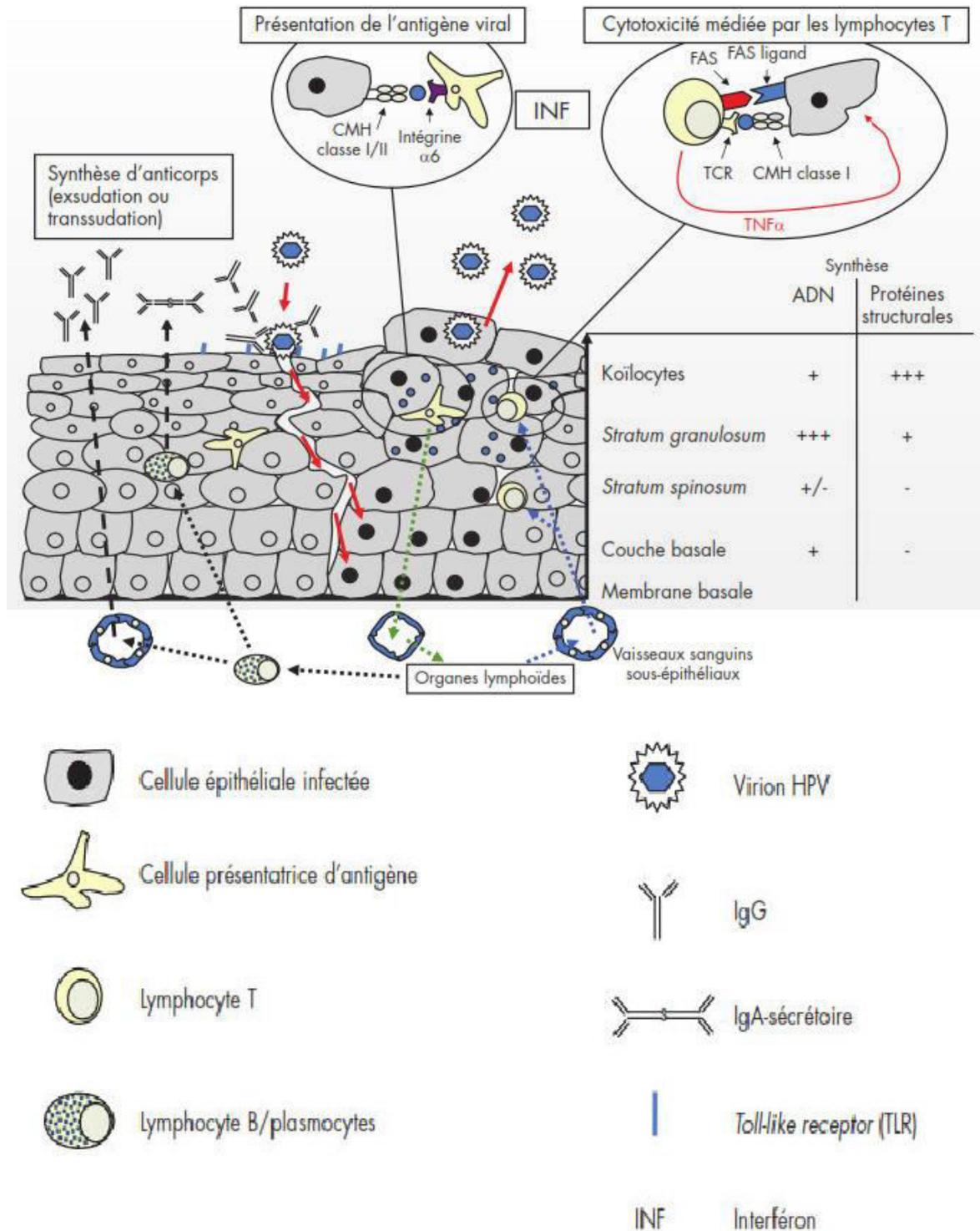


Figure 5 : Physiopathologie de l'infection et réponse immune naturelle au cours de l'infection par un HPV (Alain *et al.*,2010)

1. Généralités

Les papillomavirus humains du genre Alphapapillomavirus sont très répandus parmi les populations humaines, infectant les épithéliums muqueux et cutanés. Bien que la plupart des infections à HPV soient bénignes, des types spécifiques d'infections par le HPV ont été estimés causer environ 610 000 cancers dans le monde chaque année (**Cullen *et al.*, 2015**).

Le cancer le plus fréquemment associé à HPV est le cancer du col de l'utérus, pratiquement tous les cancers du col étant induits par HPV. D'autres cancers touchant la sphère génitale (vagin, vulve, pénis) peuvent être associés dans une moindre proportion aux HR-HPV. Ces virus sont également impliqués dans les cancers de l'anus et dans certains cancers des voies aérodigestives supérieures, le cancer de l'amygdale en particulier. Les HPV cutanés peuvent être détectés chez pratiquement tous les individus et le rôle de ces virus dans les cancers cutanés est moins évident (**Segondy, 2013**).

- En 1907, l'italien G. Ciuffo est le premier à démontrer – en s'infectant lui-même – qu'un virus ultrafiltrable (en l'occurrence un papillomavirus) est à l'origine des verrues cutanées (**Maréchal et Quignon, 2013**).
- En 1933, Shope et Hurst ont isolé l'acide désoxyribonucléique (ADN) de cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) à partir d'une verrue de lapin, mettant en évidence le lien entre les papillomes cutanés observés chez les lapins et une infection virale (**Rahimy, 2014**).
- En 1949 Strauss *et al.*, mettent en évidence par microscopie électronique les particules virales responsables des verrues humaines (**Carcopino *et al.*, 2011**).

Les HPV cutanés sont retrouvés de manière très fréquente chez les sujets sains, et de manière encore plus fréquente chez les sujets immunodéprimés, en l'absence de lésions (**Louie *et al.*, 2008**). Cependant, la fréquence des HPV dans les lésions cutanées précancéreuses ou cancéreuses n'est pas toujours significativement plus élevée que dans la peau saine (**Tableau 3**) (**Ridell *et al.*, 2011**). De nombreux types d'HPV peuvent être retrouvés dans la peau normale, en particulier au niveau des follicules pileux, ainsi que dans des lésions cutanées bénignes ou malignes (**Louie *et al.*, 2008**).

LES LÉSIONS CUTANÉES ASSOCIÉES AUX HPV

Tableau 3 : Prévalence des HPV cutanés dans la peau saine et les lésions de sujets immunocompétents et immunodéprimés. (Louie et al., 2008)

Localisation	Immunocompétents	Immunodéprimés
Peau saine	35-70 %	60-73 %
Poils	16-76 %	45-92 %
Kératose actinique	55-70 %	33-93 %
Carcinomes épidermoïdes	27-33 %	54-81 %
Carcinomes baso-cellulaires	21-44 %	33-83 %
Maladie de Bowen	67-100 %	33-40 %

2. Rappels sur le tissu cutané

La peau est l'enveloppe de notre corps, à la fois protectrice et lieu d'échanges avec l'environnement. C'est un organe complexe, possédant de nombreuses propriétés physiologiques, dont la surface est la plus étendue de l'organisme. La peau nous protège d'abord contre les agressions extérieures. Sa pigmentation assure un moyen de défense face aux rayons du soleil. La peau se divise en trois compartiments majeurs, eux-mêmes stratifiés en différentes couches (**Figure 6**), plus ou moins épaisses selon les parties du corps.

La couche la plus superficielle est l'épiderme qui se divise en 5 couches cellulaires qui sont, de l'extérieur vers l'intérieur, la couche cornée (*stratum corneum*), la couche claire (*stratum lucidum*), la couche granuleuse (*stratum granulosum*), la couche de Malpighi ou couche épineuse (*stratum spinosum*) et la couche basale (*stratum basale*).

Les mélanocytes, les cellules de Langerhans, les cellules de Merkel et les terminaisons nerveuses se situent dans les couches basales et supra-basales. Alors que les kératinocytes se trouvent dans chaque couche.

Sous l'épiderme se trouve le derme, tissu conjonctif d'épaisseur variable et composé du derme papillaire, du derme réticulaire et du derme profond.

Enfin, la plus profonde des couches de la peau est l'hypoderme, très déformable grâce à sa composition en tissus adipeux et conjonctifs. Servant d'interface entre la peau et les structures mobiles sous-jacentes (muscles, tendons, ligaments) (**Marte et al., 2007**).

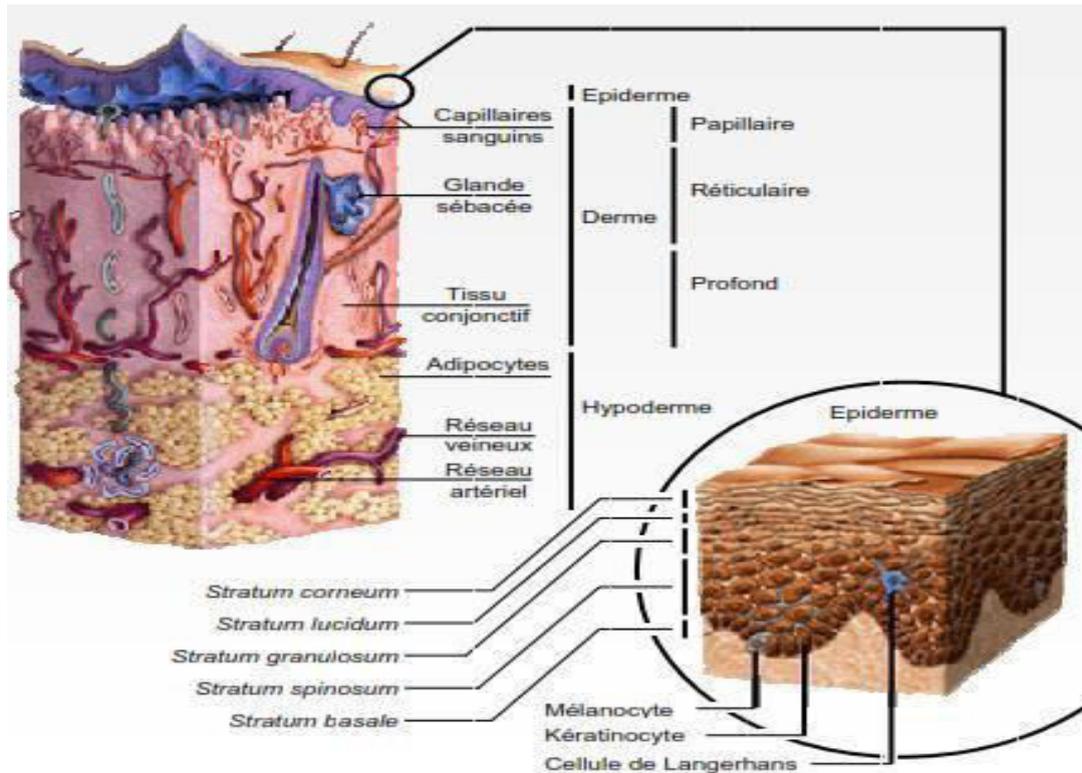


Figure 6 : structure de la peau et de l'épiderme (Marte *et al.*,2007)

3. Les lésions cutanées bénignes

3.1. Les verrues

Les verrues s'observent essentiellement chez les enfants et les immunodéprimés. Ce sont des tumeurs bénignes et modérément contagieuses. Ce virus infecte les kératinocytes, s'il n'est pas détruit par le système immunitaire de l'hôte, il induit une prolifération kératinocytaire. La durée d'incubation est variable, de 1 à 21 mois avec une moyenne de 4 mois. La transmission se fait par contact direct ou indirect.

La contamination est favorisée par certains facteurs comme des traumatismes cutanés, la marche pieds nus notamment dans les vestiaires d'équipement sportif, les piscines, les plages, les salles de bain. Certaines professions sont aussi plus exposées : bouchers, charcutiers, fromagers, abatteurs de volailles, vétérinaires. L'auto inoculation est aussi possible, par exemple d'un doigt à l'autre, la formation de verrues satellites autour de la verrue originale. On peut guérir spontanément d'une verrue virale mais cela demande beaucoup de temps. Après 2 ans, 80% des patients sont guéris de leurs verrues. Dans 1 à 5% des cas cela prend de 3 à 5 ans. Le patient a alors acquis une bonne immunité. Celle-ci peut baisser, ce qui explique les résurgences des verrues chez les patients de 30 ou 40 ans. [(Wallach, 2007) ; (Bocquet et Bagot, 2004) ;(Morel, 2001)].

LES LÉSIONS CUTANÉES ASSOCIÉES AUX HPV

Le diagnostic est clinique, et ne justifie pas de biopsie ni de recherche d'ADN viral. Les verrues se différencient les unes des autres par leur aspect clinique par leur localisation anatomique et par le type d'HPV responsable de la lésion (**Tableau 4**). La charge virale est élevée au sein des lésions favorisant leur contagiosité (**Aubin et al., 2014**). On distingue différents types de verrues :

Tableau 4 : Lésions cutanées bénignes à HPV (Aubin et al., 2014)

Forme clinique	Types d'HPV prédominant	Localisation	Aspect clinique
Verrue vulgaire	2, 27, 57	Mains	Unique ou multiples exophytiques
Verrues des bouchers	7	Mains	Multiples exophytiques
Myrmécies	1	Plantes	Unique endophotique
mosaïque	2	Plante, paume, périunguéeale	Multiples superficielles
filiforme	2	Face cuir chevelu	Multiples exophytiques
Planes	3	Face, mains	Multiples papuleuses

3.1.1. Les verrues vulgaires ou communes

Majoritairement dues aux HPV cutanés de types 1, 2, 3, 4, 27 et 57. Les verrues vulgaires affectent avec prédilection les mains et les pieds, mais peuvent aussi se développer sur n'importe quelle autre zone du corps. Très répandues chez l'enfant, ce sont des tumeurs épidermiques papillomateuses et kératosiques à limite nette, dont la taille varie d'un à plusieurs millimètres. Elles se présentent sous la forme de lésions de couleur chair, plus ou moins planes ou surélevées en papule ferme. Une surface rugueuse hyperkératosique est caractéristique, avec bordures abruptes (**Annexe 1**) (**Aubin et al., 2014**).

3.1.2. Les verrues plantaires

Les facteurs favorisant le développement de verrues plantaires sont : l'hyperhidrose plantaire, l'acrocyanose, les traumatismes locaux, les fissures et les malformations squelettiques et/ou orthopédiques. La présence de capillaires thrombosés donne souvent à ces verrues un aspect ponctué, avec hyperkératose noirâtre, les distinguant d'un durillon. Les verrues plantaires peuvent devenir très douloureuses de par leur croissance endophytique sur les zones de pression (**Aubin et al., 2014**). Deux formes cliniques de verrues plantaires sont décrites :

a) Les myrmécies ou verrues profondes

C'est la plus fréquente, Elles sont dues à HPV1 et dites en clous cornés douloureux à la pression. Leur surface est composée de petites excroissances filiformes, entourées d'un bourrelet dur, kératosique. On remarque en son centre des petits points noirs (**Annexe 1**).

b) Les mosaïques ou verrues superficielles

Ce sont des verrues superficielles, multiples, indolores et confluentes en un placard kératosique [(Wallach, 2007) ;(Morel, 2001)]. Elles sont dues à HPV2 et Pouvant être localisées au niveau des plantes, mais aussi des mains et en région périunguéale, non douloureuses (**Annexe 1**) (Aubin *et al.*, 2014).

3.1.3. Les verrues planes

Ce sont de petites papules épidermiques à peine saillantes, bien limitées, beige clair. Leur surface est bien lisse ou finement mamelonnée. Elles sont dues à HPV3. On les retrouve surtout sur le visage, le dos des mains (**Annexe 1**) et des doigts, bras, genoux et faces antérieures des jambes. Plus fréquentes chez les sujets immunodéprimés, elles peuvent devenir saillantes et atteindre une grande taille (*in White, 2004*).

3.1.4. Les verrues périunguéales ou sous-unguéales

Les verrues survenant sur le pourtour unguéal sont souvent douloureuses et de traitement difficile, dans la mesure où leur destruction peut conduire à une altération matricielle donc à une dystrophie de tablette unguéale permanente (**Annexe 1**).

3.1.5. Les verrues du boucher

Elles sont des verrues profuses étendues des mains (**Annexe 1**). À l'heure actuelle, l'implication de papillomavirus animaux n'a pas été prouvée. L'HPV de type 7 est le plus fréquemment retrouvé. La combinaison de facteurs traumatiques et de macération semble être un facteur prédisposant.

3.1.6. Les verrues filiformes ou multidigitées

Elles sont principalement retrouvées au niveau de la région céphalique, péribuccale et au niveau des zones de rasage (**Annexe 1**). Elles sont dues à HPV-2, et sont plus fréquentes chez les hommes que chez les femmes (Aubin *et al.*, 2014).

4. Déficit immunitaire génétique

4.1. Épidermodysplasie verruciforme (EV) ou syndrome de Lutz-Lewandowsky

Décrite pour la première fois en 1922 par Lewandowsky et Lutz (**Aubin *et al.*, 2014**). Les patients atteints d'EV (maladie de Lutz-Lewandowsky), 30 à 60% de leurs lésions viro-induites se transforment en lésions tumorales malignes, autres que des mélanomes, dans les zones exposées au soleil (**Badoual *et al.*, 2015**). L'EV est une génodermatose autosomique récessive, très rare (environ 300 cas mondiaux rapportés), de transmission familiale dans 20 % des cas, avec possible notion de consanguinité parentale dans 10 % des cas, voire quelques rares cas de transmission liée au chromosome X (**Lazarczyk *et al.*, 2012**), conférant une sensibilité anormale de la peau à certains HPV cutanés et plus particulièrement à HPV5 et HPV8, appartenant au genre Betapapillomavirus (**Segondy, 2013**).

Il existerait donc une infection latente des kératinocytes par ces HPV qui, sous l'influence d'autres facteurs carcinogènes (radiations ultraviolettes notamment), favoriserait le développement de cancers cutanés chez ces patients. L'EV est considérée comme un modèle de carcinogenèse cutanée en lien avec les HPV qui, peuvent être présents dans la population générale, mais sans pouvoir pathogène (**Aubin *et al.*, 2014**).

5. Les lésions cutanées précancéreuses

Les premières lésions précancéreuses se manifestent précocement sur les zones photoexposées, sous forme de kératoses actiniques et de maladie de Bowen (**Aubin *et al.*, 2014**).

5.1. Kératoses actiniques (KA)

Les kératoses actiniques apparaissent sur les zones photo-exposées : visage, dos des mains, et cuir chevelu chez les sujets dégarnis. Elles sont souvent associées à d'autres signes d'héliodermie (rides, lentigos...). Le diagnostic clinique est habituellement facile. Elles réalisent de petites plaques érythémateuses ou pigmentées, rugueuses au toucher [**Bessis *et al.*, 2009** ; **Moy, 2000**]. L'épaisseur est variable, parfois plus palpable que visible ou au contraire épaisse formant une corne cutanée. Certaines lésions sont couvertes d'une kératine jaunâtre ou brunâtre adhérente. Les KA peuvent être isolées, en petit nombre, ou multiples, donnant à l'extrême de véritables nappes (cuir chevelu) (**Uhlenhake *et al.*, 2010**). L'exposition solaire chronique est responsable de la formation de kératoses

LES LÉSIONS CUTANÉES ASSOCIÉES AUX HPV

actiniques qui peuvent régresser spontanément ou au contraire se transformer en un authentique carcinome épidermoïdes (**Rigel, 2008**).

5.2. La maladie de Bowen (MB)

La MB est une néoplasie intraépithéliale à localisation cutanée ou génitale. Elle peut affecter n'importe quelle zone de la peau, les atteintes péri-unguéales sont fréquentes (**Segondy, 2013**). La classification de la MB parmi les lésions précancéreuses est controversée ; on peut le considérer comme un véritable carcinome spinocellulaire in situ, qui occupe toute l'épaisseur de l'épiderme. La MB touche plutôt les sujets âgés. Elle peut être induite par les rayons ultraviolets ; elle siège alors sur les zones photoexposées. Elle peut être aussi secondaire à une intoxication par l'arsenic. Elle peut se localiser au lit de l'ongle ; dans ce cas, les virus type HPV ont été incriminés (**Martel, 2001**).

6. Les cancers cutanés

Les lésions malignes de la peau se divisent en deux sous- groupes principaux, les mélanomes malins et les carcinomes et en particulier les carcinomes basocellulaires et les spinocellulaires (correspondant aux carcinomes épidermoïdes des muqueuses) (**Badoual et al., 2015**).

6.1. Mélanomes cutanés

Comme l'ensemble des cancers cutanés, le mélanome malin est une affection qui connaît une augmentation constante, avec une incidence qui double pratiquement tous les dix ans.

Il existe de nombreux arguments pour suspecter le rôle des radiations ultraviolettes dans cette augmentation. Ainsi, l'exposition aux UV est actuellement considérée comme le principal facteur de risque environnemental, mais de nombreux paramètres relatifs à l'irradiation (intensité et périodicité) ou au phototype sont encore mal compris. Cette complexité est illustrée par de nombreux travaux sur la physiopathogénie du mélanome (**Miller et Mihm, 2006**).

L'implication du virus HPV dans la cancérogenèse des mélanomes n'a pas pour l'instant été prouvée, même si la présence de ce virus a été identifiée dans ces lésions. Il existe une surexpression de p16 dans certains mélanomes héréditaires qui est due à la méthylation du promoteur ou à des mutations. Dans cette pathologie, la surexpression de p16 n'est pas corrélée à la présence d'HPV mais pourrait être un marqueur de

dysfonctionnement du cycle cellulaire (**Badoual et al., 2015**).

6.2. Carcinomes cutanés

Les cancers cutanés épithéliaux ou carcinomes cutanés non mélaniques (NMSC) sont les plus fréquents des cancers humains en général et des cancers cutanés en particulier. Leur incidence augmente régulièrement du fait de l'allongement de la durée de vie et des comportements, en particulier l'exposition solaire répétée. La grande majorité des carcinomes épithéliaux cutanés sont de bon pronostic, avec une mortalité minime contrastant avec leur caractère récidivant et multiple et le fait qu'ils touchent une population âgée. En raison du vieillissement de la population, ils constituent un problème de santé publique [(**Lear et al., 2007**) ; (**Roewert-Huber et al., 2007**)].

Environ 30 à 60 % des patients développeront au moins un carcinome épidermoïde cutané au cours de leur vie, à partir de 30 ans, notamment en zone photoexposée. Les HPV de types 5, 8 et plus rarement 14, 17, 20 et 47 ont été détectés dans 90 % des carcinomes cutanés de ces patients. Au sein de ces carcinomes, il existe un nombre élevé de copies virales épisomales par cellule ainsi que d'abondants transcrits des oncogènes E6 et E7. Néanmoins, l'intégration du génome viral n'a été qu'exceptionnellement observée (**Aubin et al., 2014**). L'implication d'HPV (le plus souvent des sous-types différents de ceux retrouvés dans les cancers muqueux) dans le développement de carcinomes cutanés est très diverse, plurifactorielle et nécessite d'être clarifiée (**Badoual et al., 2015**). On distingue deux grands types de carcinomes cutanés :

6.2.1. Les carcinomes basocellulaires (CBC)

Les plus fréquents (2/3 des carcinomes cutanés chez le sujet immunocompétent) sont des tumeurs d'évolution lente, essentiellement locales, qui ne métastasent jamais.

6.2.2. Les carcinomes spinocellulaires ou épidermoïdes (CE)

Elles ont une évolution locale beaucoup plus agressive et peuvent métastaser. Ils représentent 1/3 des carcinomes cutanés. Bien que se développant à partir de la même cellule, le kératinocyte, les deux cancers les plus fréquents (CBC et CE) ont une physiopathogénie et un comportement totalement différent, ce qui justifie de les présenter séparément [(**Lear et al., 2007**) ; (**Roewert-Huber et al., 2007**)].

6.3. Facteurs de risque des cancers cutanés non mélaniques

Depuis ces premières observations, de nombreuses études ont permis d'affirmer le caractère carcinogène des UV. La responsabilité des UV dans la carcinogenèse cutanée est suspectée depuis très longtemps en raison des observations suivantes :

- Les cancers cutanés sont plus fréquents dans les pays de fort ensoleillement ;
- Ils sont dans la majorité des cas situés sur les zones photo-exposées ;
- Leur incidence est plus importante chez les individus de phototype clair, plus photosensibles ;
- Il existe souvent une relation entre le degré de l'exposition solaire et le risque de survenue
- De cancer chez un même individu [(Armstrong et Kricer, 2001) ; (Elwood et Jopson, 1997) ; (Rigel, 2008)].

Certains génotypes HPV ont été associés à des cancers de la peau non mélanomes (Badoual *et al.*, 2015). Il semble toutefois que ces HPV puissent jouer un rôle de cofacteur, avec les UV (Ridell *et al.*, 2011), dans 30 à 50 % des cancers cutanés non-mélanome, cette proportion étant de l'ordre de 90 % chez les immunodéprimés (Segondy, 2013).

7. Cancers cutanés chez les Transplantés d'organes

La pérennité d'un organe greffé nécessite la prise d'un traitement immunosuppresseur antirejet à vie par la plupart des patients. Le déficit immunitaire qui en résulte est responsable une augmentation des infections, en particulier virales, et des cancers viro-induits. Les infections cutanées à HPV sont les plus fréquentes et prédominent sur les zones exposées aux UV.

L'immunosuppression locale et systémique induite par les UV pourrait favoriser l'infection cutanée à HPV chez ces patients immunodéprimés. La majeure partie de ces infections survient dans les premiers mois ou années post-transplantation, et leur prévalence augmente avec la durée d'immunodépression. À 5 ans post-transplantation, plus de 80 % des greffés rénaux présentent des verrues (Proby *et al.*, 2011). Il s'agit de lésions cutanées bénignes classiques (verrues, papillomes, lésions verruco-kératosiques), mais volontiers profuses et survenant sur les régions photoexposées. À la différence des populations immunocompétentes, ces verrues régressent rarement, sont souvent récalcitrantes aux traitements de première intention, et présentent une plus grande diversité de types d'HPV (de Koning *et al.*, 2009).

LES LÉSIONS CUTANÉES ASSOCIÉES AUX HPV

Les patients immunodéprimés greffés d'organe ont donc plus de risque de développer des cancers cutanés, en particulier des carcinomes épidermoïdes dont l'incidence cumulative augmente avec les années d'immunosuppression et l'exposition aux radiations UV. Ainsi après une vingtaine d'années de greffe, 40 à 70 % des transplantés vont développer au moins une tumeur cutanée, précédée de nombreuses lésions verruqueuses et kératosiques. (**Euvrard et al., 2003**).

La séroprévalence anti-L1 des HPV est positive chez 80 % des patients greffés d'organe le plus souvent vis-à-vis de plusieurs types d'HPV bêta et n'évolue pas de manière significative au cours des 18 premiers mois de la période post-transplantation. Le nombre de types viraux présents dans les follicules pileux des patients greffés d'organe ainsi que la charge virale sont significativement plus élevés que chez les sujets immunocompétents et pourraient contribuer au risque de cancers cutanés chez ces patients (**de Koning et al., 2009**). Proby *et al.* ont montré une association significative entre le risque de carcinome épidermoïde chez les patients transplantés rénaux et la détection d'ADN d'HPV au sein des sourcils et la présence d'anticorps anti-L1 d'HPV bêta (**Proby et al., 2011**).

8. Cancers cutanés chez les patients séropositifs au VIH (le virus de l'immunodéficience humaine)

L'infection par le VIH modifie l'histoire naturelle de l'infection à HPV, avec une diminution des taux de régression, une augmentation de la réactivation des infections latentes à HPV, et une progression plus rapide vers des lésions de haut grade, invasives, tant muqueuses que cutanées, qui nécessitent des interventions thérapeutiques plus agressives associées à une surveillance accrue de ces patients.

De façon similaire aux patients transplantés d'organe solide, les lésions cutanées verruqueuses sont plus fréquentes et souvent profondes. Des éruptions cutanées simulant une épidermodysplasie verruciforme (EV) sont parfois observées [(**Jacobelli et al., 2011**); (**Rogers et al., 2009**)].

Le risque de carcinome épidermoïde est multiplié par 4 parmi la population VIH. Les patients vont présenter de nombreuses lésions papuleuses, plus ou moins verruqueuses, plus ou moins pigmentées ou érythémateuses, disséminées, mais prédominant sur les zones photoexposées. Les types d'HPV sont similaires à ceux retrouvés dans l'EV et il existe parfois des co-infections par des HPV alpha muqueux (**Sri et al., 2012**).

9. Traitements

Il n'existe pas à l'heure actuelle de thérapie antivirale spécifique dirigée contre les HPV infectant la peau. L'ensemble des méthodes thérapeutiques fréquemment utilisées ont globalement toutes le même taux de guérison ou de récurrence. Les traitements de référence demeurent la cryothérapie et l'application d'acide salicylique. Dans une récente méta-analyse, Kwok *et al.* ont montré qu'un traitement combiné associant la cryothérapie et l'application de collodion à base d'acide salicylique présente une meilleure efficacité que ces traitements réalisés séparément (**Kwok *et al.*, 2012**).

Les objectifs thérapeutiques sont soit de détruire ou d'enlever les lésions visibles, soit d'avoir un effet cytotoxique direct sur les cellules infectées. Aucun de ces traitements ne peut éradiquer définitivement l'infection à HPV ou permettre une parfaite protection contre la récurrence. Les HPV font partie du microbiome cutané et les infections cutanées latentes à HPV peuvent en effet conduire à des récurrences très tardives. Dans la mesure où la majeure partie des infections cutanées à HPV sont limitées et peuvent être spontanément éliminées, les différents traitements entrepris ne doivent pas laisser de cicatrice ou d'autres séquelles (**Aubin *et al.*, 2014**).

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

CHAPITRE III : MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

1. Généralités

Les papillomavirus humains (HPV) sont des virus à ADN infectant les kératinocytes des muqueuses épidermoïdes génitales et de la peau. Le cycle viral des papillomavirus dépend de la différenciation épithéliale et les méthodes d'isolement viral par culture cellulaire sont difficiles à mettre en place. Néanmoins, l'utilisation de modèles de culture organotypique de kératinocytes ou de lambeaux tissulaires sur un gel de collagène ont permis des avancées significatives dans la compréhension des mécanismes moléculaires régulant la réplication virale. Ces modèles ne peuvent pas être utilisés en routine pour le diagnostic et seules des techniques de biologie moléculaire permettent d'identifier qualitativement ou de quantifier les séquences nucléiques des HPV. Ces techniques de biologie moléculaire sont nombreuses et parfois complémentaires (**Figure 7**) (Ollier et Giordanengo, 2008).

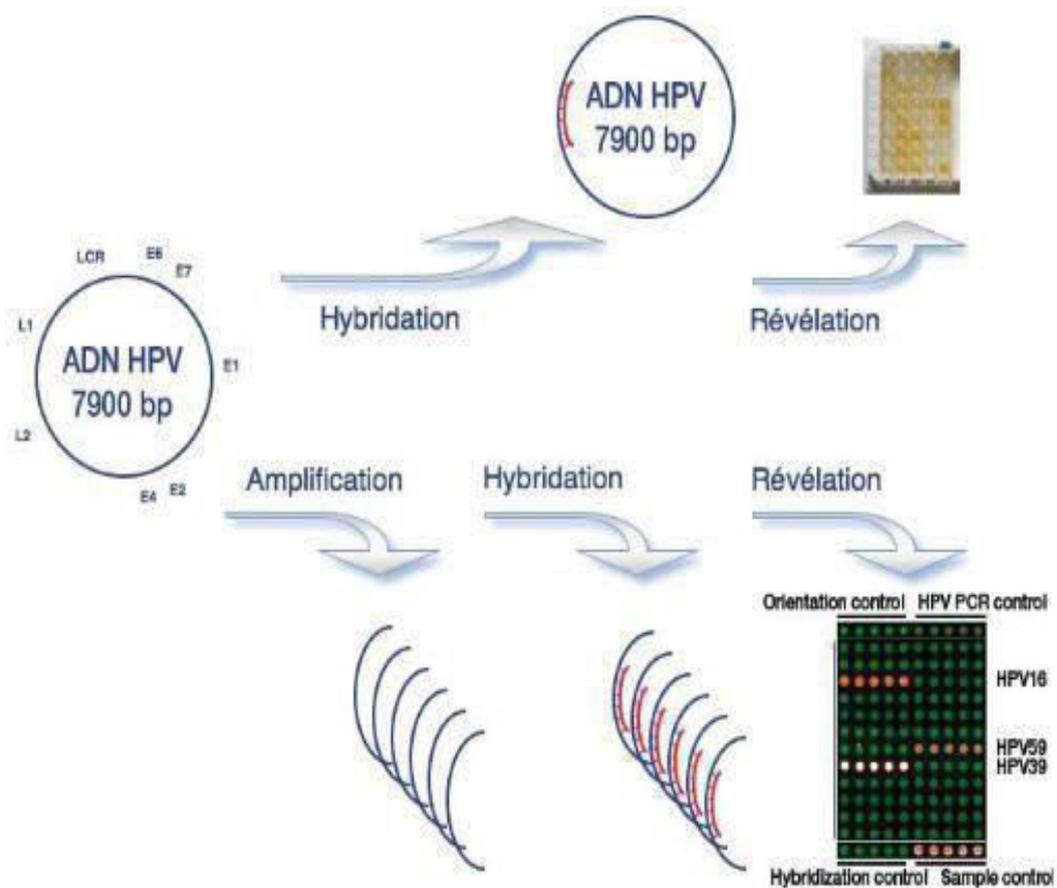


Figure 7 : Représentation schématique des différentes étapes des techniques de détection et de génotypage des HPV (Ollier et Giordanengo, 2008)

2. Détection qualitative du génome HPV

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

2.1. Détection des HPV à haut risque, sans précision du type

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

2.1.1. L'hybridation in situ (HIS)

L'utilisation d'un cocktail de sondes dirigées contre des HPV oncogènes permet de prouver la présence de l'ADN HPV dans les tumeurs. Il s'agit d'une technique qui peut se faire en routine, par automate, mais qui reste de réalisation et d'interprétation délicate. Il s'agit d'une méthode fiable, dont les résultats sont assez proches de ceux obtenus avec une PCR (polymerase chain reaction). Elle est couteuse et demande une certaine technicité (Badoual *et al.*, 2015).

2.1.2. La technique FISH

La technique FISH (Hybridation In Situ en technique Fluorescente) autorise l'observation, via un microscope à fluorescence, d'une hybridation sur des chromosomes en métaphase ou sur un noyau en interphase. Ceci permet la localisation précise de génomes viraux d'HPV, que ce soit sur des cellules du col utérin, des coupes fixées au formol et incluses en paraffine ou encore sur des coupes congelées. Le seuil de détection de l'HIS est faible (20 à 50 copies par cellules) mais si l'axe de coupe est correct ou que les cellules étalées après un frottis ne sont pas trop dénaturées, quelques cellules seulement sont nécessaires. Bien que la spécificité de cette technique soit bonne, la sensibilité est modérée (60%) et donc insuffisante. Les méthodes de PCR et d'hybridation en phase liquide remplacent donc de plus en plus l'HIS (Monsonogo, 2006).

2.1.3. Hybridation en phase liquide

La spécificité diagnostique de cette technique ancienne repose sur une étape d'hybridation en solution, c'est une immunocapture en phase liquide (Ollier et Giordanengo, 2008). L'ADN est extrait et l'hybridation en phase liquide est réalisée entre l'ADN viral cible dénaturé et un « cocktail » de sondes ARN complémentaires de 13 HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 68).

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

Les hybrides ADN/ARN formés sont stables et, grâce à des anticorps polyclonaux antiduplex ADN/ARN fixés sur la paroi des puits, ils sont captés sur la paroi de la microplaque. Après capture des hybrides, un anticorps anti-duplex couplé à une phosphatase alcaline (PAL) réagit avec la partie libre des duplex (**Figure 8**). En présence d'un substrat chimioluminescent (**Dessaïgne, 2011**). La PAL déclenche une émission de lumière détectée par un luminomètre. La sensibilité de cette technique est proche de celle de la PCR tout en étant une technique rapide, reproductible et applicable à de grandes séries (**Ollier et Giordanengo, 2008**). Le rendu du résultat est qualitatif:

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

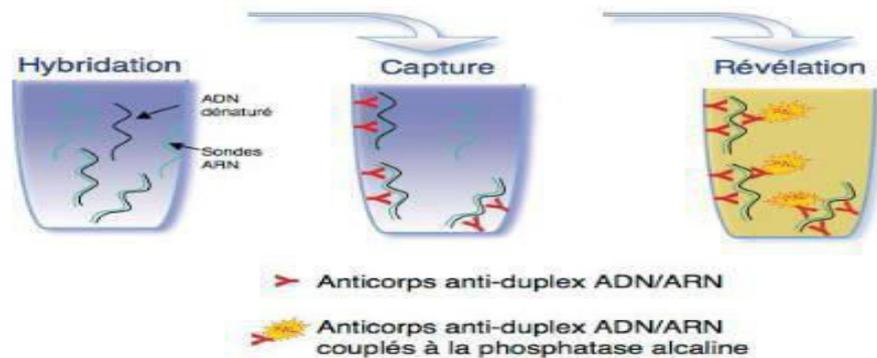


Figure 8 : Hybridation en phase liquide (Ollier et Giordanengo, 2008)

2.1.4. PCR (Polymerase Chain Reaction)

C'est une méthode sensible et relativement rapide. La mise en place de ces techniques nécessite, dans les laboratoires, des locaux adaptés et la formation des techniciens afin d'effectuer les techniques selon les normes recommandées et ainsi éviter les écueils techniques, en particulier tout risque de contamination inter-échantillons et des résultats faussement positifs (**Eide et Debaque, 2012**).

La PCR permet d'amplifier et d'identifier des séquences d'ADN présentes dans un milieu. C'est à l'heure actuelle la technique de référence. Les acides nucléiques du prélèvement obtenu par frottis ou biopsie sont extraits puis la cible ADN correspondant à une séquence connue est amplifiée exponentiellement selon 3 étapes :

- Dénaturation des doubles hélices d'ADN par chauffage.
- Hybridation des amorces spécifiques encadrant la région à amplifier : la grande diversité des génotypes d'HPV a conduit au développement de systèmes d'amorces à large spectre, permettant l'amplification de nombreux génotypes d'HPV.

Ces amorces doivent cibler une région très conservée et qui n'est pas susceptible

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

d'être déléetée ou modifiée en cas d'intégration du génome viral au génome de la cellule hôte. La région L1 étant la région la plus conservée du génome viral et étant suffisamment éloignée de la région E2 (point de cassure le plus fréquent en cas d'intégration).

- Extension et amplification grâce à une ADN polymérase ADN dépendant. La région cible peut être amplifiée plusieurs milliards de fois. Le produit d'amplification est nommé amplicon [(Blanc, 2005) ; (MONSONEGO, 2006) ; (MONSONEGO, 2007)].

Les produits de PCR peuvent être facilement détectés par la technique standard d'électrophorèse en gel d'agarose. Cependant, dans un contexte de diagnostic, il est indispensable d'assurer la spécificité du résultat. Ainsi, des méthodes de révélation plus élaborées ont été mises au point, reposant pour la plupart sur l'utilisation de sondes spécifiques diversement marquées, venant s'hybrider avec les produits d'amplification grâce à la complémentarité des séquences nucléotidiques, et permettant soit la détection globale d'HPV, soit le génotypage des différents HPV présents (Dalstein *et al.*, 2007). Cette technique donne des résultats qualitatifs uniquement et ne permet pas de mettre en évidence des infections multiples à HPV (Dessaigne, 2011).

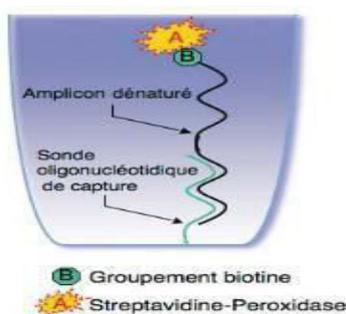
2.1.5. Amplicor HPV Test ® (Roche Diagnostics)

Il s'agit d'une technique de PCR classique avec des amorces consensus PGMY09/11 ciblant la région virale L1. Il s'agit de la première trousse HPV commercialisée en Europe en 2004 basée sur une technique de PCR. Elle détecte les 13 génotypes à haut risque (sensibilité analytique à 500 copies/mL) et possède un contrôle interne, le gène cellulaire de la β -globine, qui est amplifié par les mêmes amorces. Ce test se déroule en quatre étapes : extraction de l'ADN, amplification des séquences cibles par des amorces biotinylées formant des amplifiats de 165 pb, dénaturation et hybridation des amplicons formés avec des sondes spécifiques sur microplaques puis détection par chimiluminescence (Eide et Debaque, 2012). La sensibilité et la spécificité évaluées par le fabricant sont respectivement de 93% et 95%. Cette technique donne des résultats qualitatifs uniquement et ne permet pas de mettre en évidence des infections multiples à HPV (Sandri *et al.*, 2006).

La révélation des amplicons est obtenue après une étape de dénaturation. Un mélange de sondes spécifiques reconnaissant les 13 HPV ciblés, immobilisées dans les puits d'une microplaque, viennent s'hybrider avec les produits d'amplification biotinylés grâce à la

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

complémentarité des séquences nucléotidiques. Une réaction enzymatique faisant intervenir l'avidine-HRP et son substrat permet la révélation des amplicons biotinylés (**Figure 9**). L'intensité de la réaction colorimétrique est évaluée par lecture de la densité optique à 450 nm [(Blanc, 2005) ; (MONSONEGO, 2006) ; (MONSONEGO, 2007)].



**Figure 9 : Détection immunoenzymatique des amplicons HPV
(Ollier et Giordanengo, 2008)**

2.2. Technique de génotypage des HPV

Le patient pouvant être infecté par un seul type d'HPV ou présenter une infection multiple, ces techniques identifient (le ou les) génotype(s) d'HPV présents dans l'échantillon analysé. Elles comportent une étape d'amplification PCR d'un fragment d'ADN HPV. Le choix de la région amplifiée doit répondre à deux contraintes : une séquence ADN suffisamment conservée à ses extrémités afin de permettre une PCR de genre, mais divergente dans sa région interne pour autoriser le génotypage par comparaison avec des séquences de génotypes connus. La réalisation d'une PCR contrôle, à partir d'un ADN cellulaire ubiquitaire, peut valider la qualité du prélèvement et le bon déroulement des étapes d'amplification et de révélation (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

Les deux techniques les plus utilisées à l'heure actuelle sont les techniques de génotypage Inno-LiPA (Immunogenetics) et Linear Array. Ces techniques sont capables de discriminer respectivement 28 génotypes et 37 génotypes HPV de haut ou bas risque oncogène (**Badoual et al., 2015**).

✓ La technique de Linear Array®

Le génotypage HPV Linear Array® (Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA, États-Unis) est un test basé sur la PCR couplé à une hybridation par transfert en ligne inversée (**Abreu et al., 2012**). C'est un test qualitatif qui permet d'identifier 37 génotypes d'HPVs : 15 HPV de haut risque, trois HPV potentiellement à haut risque et 19 HPV de bas risque (**Eide et Debaque, 2012**).

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

Le test utilise des amorces PGMY09/11 biotinylées pour amplifier un fragment de 450 pb dans la région L1 polymorphique du génome du HPV. L'hybridation et la détection du produit amplifié sont réalisées avec l'instrument Auto-LIPA (Innogenetics, Gand, Belgique, qui peut traiter jusqu'à 30 bandes simultanément d'une manière parfaitement standardisée. Les signaux colorés sur les bandes sont lus à l'œil nu et interprétés selon le guide de référence Linear Array (**Abreu *et al.*, 2012**).

✓ **La technique d'Inno-LiPA®**

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

Dans chacun des 2 tests, il existe un contrôle ADN humain : la β -globine pour Linear Array® et HLA-DBP1 pour INNO-LiPA®. Ces contrôles valident les étapes d'extraction, d'amplification et d'hybridation-révélation pour chaque échantillon testé. Les études comparatives ne montrent pas de différence significative entre ces deux tests en terme de sensibilité et spécificité (**Galan et Rodriguez, 2009**).

2.2.1. Génotypage par séquençage

C'est la méthode de référence puisque c'est la séquence complète de la région L1 qui définit les différents génotypes d'HPV. Cependant, en routine, le génotypage est réalisé à partir d'une plus courte séquence, celle des amplicons : région variable suivant le type qui sera alignée avec des séquences de référence des différents génotypes d'HPV. Cette méthode permet de détecter le génotype d'HPV majoritaire, présent dans le prélèvement, mais peut difficilement diagnostiquer les infections multiples.

En revanche, elle permet de détecter des variants d'HPV (pour les HPV 16 et 18 principalement) dont la distribution varie selon les zones géographiques (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

2.2.2. Génotypage par puce à ADN

Cette technique de biologie moléculaire est en plein essor et permet un génotypage rapide. Cette technique est simple, sensible et rapide. Elle permet également de détecter les différents types dans les infections HPV multiples (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

Ainsi le kit PapilloCheck® (Greiner Bio One) permet la détection et le génotypage de 24 papillomavirus : 18 HPV-HR et 6 HPV-BR. Le principe de ce test repose sur une PCR avec des amorces consensus ciblant une zone de 350 pb de la région E1 du virus. Cette PCR est suivie par une hybridation des amplicons obtenus avec des sondes spécifiques immobilisées sur des puces : chaque type d'HPV est détecté par une sonde spécifique présente en cinq exemplaires sur chaque puce. L'ADN fixé est ensuite marqué par une molécule fluorescente qui est excitée à une longueur d'onde donnée (**Figure 10**). La révélation se fait par fluorescence avec interprétation sur un logiciel spécifique (**Eide et Debaque, 2012**).

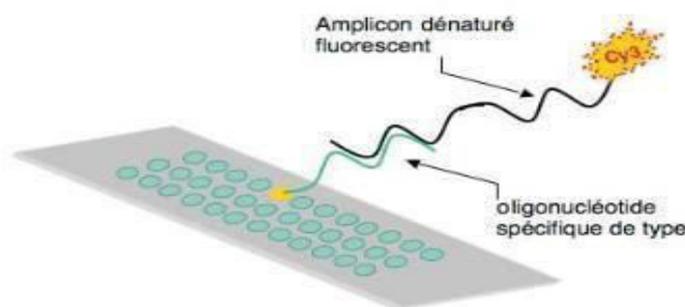


Figure 10 : Génotypage par puce à ADN (Ollier et Giordanengo, 2008)

2.2.3. Génotypage par la technologie Luminex®

La technologie Luminex® est une nouvelle technologie de cytométrie en flux permettant la détection de réactions multiples dans un même tube (**Ollier et Giordanengo, 2008**). Le principe repose sur l'utilisation de microbilles de polystyrène couplées à des sondes oligonucléotidiques spécifiques: après amplification de l'ADN HPV avec des amorces fluorescentes, les amplicons sont dénaturés puis hybridés sur des microsphères colorées marquées avec des fluorophores spécifiques de chaque génotype d'HPV, l'analyse est réalisée par cytométrie de flux à deux lasers, un laser détecte le fluorophore témoin de la présence d'un amplicon HPV, un autre laser détecte la couleur de la microsphère et donc le génotype HPV (**Dessaigne, 2011**).

3. Détection quantitative du génome HPV

Ces techniques évaluent la charge virale d'un type précis d'HPV. La quantité de virus détecté dans les frottis pourrait être liée au grade de la lésion et donc être un facteur pronostique.

MÉTHODES DE DÉTECTION ET D'IDENTIFICATION D'HPV

L'arrivée de la PCR en temps réel donne une quantification précise par comparaison avec des standards internes. La détection et la quantification simultanées de l'ADN cible sont possibles grâce à la mesure « en temps réel » de l'émission de fluorescence. L'intensité de cette fluorescence est proportionnelle à la quantité d'amplicons synthétisés et donc au nombre de cibles présentes initialement dans le prélèvement. L'analyse de la pente de la courbe de mesure de la fluorescence, au tout début de la phase exponentielle, permet la quantification de cet ADN par rapport à une gamme étalon (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

4. Détection des ARNm des HPV

La détection des ARN messagers E6/E7 permettrait de distinguer les infections transitoires (faible expression des ARNm) des infections évoluant vers une pathologie cancéreuse forte expression. Ces ARNm sont le reflet d'une infection active à papillomavirus humain oncogène (**Eide et Debaque, 2012**), puisque les protéines oncogéniques E6 et E7 sont responsables de la carcinogenèse liée aux HPV à haut risque (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

5. Apport de la p16 INK4A

La p16 INK4A, membre de la famille des protéines régulatrices du cycle cellulaire INK4A, inhibe spécifiquement la formation du complexe cycline D/CDK4, 6. L'inactivation fonctionnelle de pRb par l'oncoprotéine virale E7 se traduit par une surexpression de p16 INK4A (**Missaoui *et al.*, 2010**).

Une surexpression de p16 par la tumeur, en immuno-histochimie, est donc un marqueur indirect d'une infection par HPV. De très nombreuses études ont montré une corrélation forte entre la présence du virus, par PCR ou hybridation in situ, et l'expression immuno-histochimique de p16 (environ 90 %) (**Badoual *et al.*, 2015**). La surexpression de p16 INK4A pourrait constituer un outil important pour identifier les lésions précancéreuses et réduire la variabilité diagnostique observée durant l'évaluation des lésions suspectes (**Missaoui *et al.*, 2010**).

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

I. MÉTHODOLOGIE

1. Étude du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen

1.1. Objectifs

1.1.1. Objectif principal

Étudier le profil épidémiologique des cancers cutanés au niveau de la région de Tlemcen entre les années 2012 et 2016.

1.1.2. Objectifs spécifiques

Étudier la répartition des cancers cutanés :

- ✓ Par années.
- ✓ Selon l'âge des patients.
- ✓ Selon le sexe des patients.
- ✓ Selon la morphologie.
- ✓ Selon la localisation de la tumeur.
- ✓ Selon le stade de diagnostic.
- ✓ Selon la base de diagnostic.

1.2. Type de l'étude

Cette partie de travail se focalise sur une étude rétrospective se déroulant durant une période de cinq ans (2012 à 2016), limitée autour d'une aire géographique (région de Tlemcen).

1.3. Population cible

La population cible est définie par les patients ayant présenté un cancer cutané diagnostic et/ou pris en charge au niveau du CHU de Tlemcen entre le 01 janvier 2012 et le 25 mai 2016.

1.4. Source d'information

L'ensemble des données a été au niveau du service d'Épidémiologie -CHU Tlemcen.

1.5. Analyse des données

L'analyse statistique, les tableaux et les graphiques ont été configurés sur Microsoft Excel® 2016.

2. Recherche d'HPV à partir des lésions cutanées

2.1. Objectif

Détection d'ADN d'HPV à partir des biopsies de lésions cutanées par PCR classique et par utilisation du test Amplicor® HPV.

2.2. Lieu d'étude

L'étape de déparaffinage de biopsie, la recherche d'HPV par PCR conventionnelle et la technique d'Amplicor HPV ont été réalisées au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE), ainsi que le laboratoire de biologie moléculaire (faculté de SNV-STU).

2.3. Matériel et méthodes

2.3.1. Prélèvement

Des prélèvements tissulaires d'une collection de LAMAABE de Docteur NAHET Amira récoltés à partir du service d'anatomopathologie du CHU de Tlemcen a été utilisé dans cette étude.

Dans cette étude des coupes fines de biopsie mise en paraffine déposées dans des tubes d'ependorf, ont été utilisée pour la recherche d'ADN d'HPV mais après déparaffinage.

Une biopsie, c'est le prélèvement chirurgical d'un fragment de tissu ou d'organe (peau). Elle est réalisée selon les cas, par un chirurgien au bloc opératoire ou par un médecin spécialiste (en dermatologie par exemple), dans un cabinet médical, afin de l'examiner.

2.3.2. Déparaffinage

Pour qu'on puisse faire une extraction, la paraffine doit être éliminée. On procède donc au déparaffinage, qui consiste à ajouter 900 µl de toluène, et 100 µl d'alcool absolu dans chaque tube contenant les coupes tissulaires afin de dissoudre la paraffine tout en évitant de toucher l'échantillon. Une agitation est réalisée à l'aide d'un vortex et une centrifugation à 12000 rpm pendant 5 min. Après cette dernière le surnageant est jeté.

Un volume de 900 µl d'alcool absolu est ajouté au culot obtenu suivi de 10 min d'agitation manuelle et une centrifugation à 12000 rpm pendant 5 min. cette dernière étape est répétée afin d'améliorer le déparaffinage. Enfin le culot est laissé sécher à l'air libre.

2.3.3. Détection d'HPV par PCR conventionnelle

La PCR est une technique de détection d'ADN viral qui se déroule en trois étapes : l'extraction des acides nucléiques (ADN), l'amplification des fragments cibles de l'ADN et la révélation sur gel d'agarose.

a) Extraction et purification des acides nucléique (ADN)

Dans cette étape, la technique de « salting out » a été utilisée

A forte force ionique, il y a tellement d'ions qu'il y a compétition entre les ions et la protéine pour s'accaparer le solvant. La protéine devient de moins en moins soluble lorsque la force ionique augmente : c'est le "salting out".

- Pour la lyse cellulaire, 200 µl de tampon AL et 20 µl de protéinase K (PK) sont ajoutés dans chaque tube contenant le culot. Agiter au vortex puis incubé au bain-marie à 56°C pendant une nuit.
- Mettre 200 µl de NaCl, puis centrifuger à 4000 rpm durant 10 minutes. Récupérer 500 µl de surnageant dans un autre tube, et y ajouter 1000 µl d'éthanol absolu froid (-20°C). Mélanger et centrifuger à 14000 rpm pendant 8 minutes.
- Jeter le surnageant et garder le culot et y ajouter 500 µl du tampon de lavage (l'éthanol 70%).
- Enfin, sécher à l'air libre et resuspendue dans 20 µl d'eau ultra pure, et en cas de conservation le tampon TE 10/10 (Tris/HCl 10mM ; EDTA 1mM ; pH 8) est utilisé, et garder les tubes à -20°C.

b) Contrôle de qualité de l'ADN par spectrométrie

La concentration de l'ADN est estimée par la densité optique (DO) à 260nm sachant qu'une unité de DO à 260nm correspond à 50 µg d'ADN/ml.

La pureté de l'ADN extrait est évaluée par le rapport de sa densité optique DO260nm/DO280nm qui doit être compris entre 1,8 et 2,0. Une valeur supérieure témoigne d'une contamination par le sel et une valeur inférieure, d'une contamination protéique (**Habchi et Benbayer, 2014**).

- Une dilution au 1/100 a été faite ; le spectrophotomètre doit être ajusté avec le blanc (cuve d'eau ultra pure).
- Verser les échantillons dans les cuves en quartz.
- Les lectures étaient effectuées à 260 nm. La même opération est réalisée à 280nm. Le Ratio DO260nm/DO280nm a été calculé.

c) Amplification de l'ADN cible par PCR

La PCR est une technique qui permet d'amplifier in vitro une région spécifique d'ADN selon trois étapes : dénaturation, hybridation et extension, le tout forme un cycle. Il s'agit de réaliser une succession de réaction d'une matrice double brin ADN, chaque réaction met en œuvre deux amorces. Trente à quarante cycles sont nécessaires et sont réalisés en une à deux heures (**Gil, 2007**).

Pour une seule réaction, le mélange réactionnel de 45 µl est constitué de :

- 10 µl de mix de QIAGEN® (MQ) qui est préparé de tampon de la Hot Star Taq polymérase 10x, MgCl₂ à 1,5 mM, les dNTP (déoxynucléotide triphosphate) à 0,2 mM et de l'eau ultra pure.
- 1 µl de l'amorce MY11.
- 1 µl de l'amorce MY09.
- 0,2 µl de la hot star Taq polymérase.
- 32,8 µl d'eau distillée stérile.

➤ Remarque

Pour plusieurs réactions, il faut multiplier par le nombre d'échantillons.

Après avoir numéroté les tubes en barrettes, 45 µl du mélange réactionnel est mis dans chaque tube et 5 µl de chaque extrait d'ADN est ajouté en respectant l'ordre des tubes.

➤ **Remarque**

L'ADN est laissé à la fin, pour des raisons de précaution de contamination.

Ensuite les tubes sont placés dans une enceinte de thermocycleur dans laquelle la température peut varier très rapidement et précisément, de 0 et 100°C.

Le thermocycleur contrôle les changements de températures à différentes étapes de la réaction. Cette dernière se fait en 2 heures et 30 minutes, et le programme d'amplification était comme suite :

- Etape de dénaturation initiale : 95°C pendant 15 minutes.
 - Etape de dénaturation : 95°C pendant 30 secondes.
 - Etape d'hybridation : 54°C pendant 45 secondes.
 - Etape d'extension : 72°C pendant 1 minute pour l'élongation.
 - Etape d'extension finale : 72°C pendant 5 minutes.
 - Etape finale : Fin du programme 4°C jusqu'à l'infini.
- } 40 cycles

d) L'électrophorèse sur gel d'agarose

D'abord, préparer le TAE à 0,5x à partir de TAE 10x et préparer ensuite un gel à 1,5% d'agarose préparé dans un tampon TAE 0.5x (1,5 g d'agarose dissoute dans 100 ml de tampon TAE 0,5x)

- Faire fondre l'agarose au microonde (agiter de temps à autre pour homogénéiser le mélange).
- Laisser refroidir jusqu'à ce qu'il devient possible de saisir le flacon à main nue (environ 60°C).
- Ajouter le BET, et homogénéiser délicatement.
- Placer ensuite le peigne (à 1mm du fond et à environ 1cm de l'extrémité) à l'une des extrémités du support et couler doucement le gel (5mm d'épaisseur) en évitant toute formation de bulle. Laisser le gel se solidifier. Le gel étant chaud éviter d'inhaler la vapeur de BET au niveau de la cuve. Retirer délicatement le peigne.
- positionner le plateau de moulage au niveau de la cuve à électrophorèse les puits du côté de la cathode.

- Remplir la cuve de tampon TAE 0,5x pour qu'il recouvre légèrement le gel.
- Mélanger 6 μ l d'échantillon avec le bleu de charge (bleu de bromophénol) ajouter sur un morceau de parafilm et prélever en changeant de cône à chaque échantillon.
- Remplir les puits en faisant attention de ne pas déchirer le fond du gel avec la pointe de la pipette (**Figure 11**). Déposer 5 μ l de marqueur de taille dans le dernier puits.

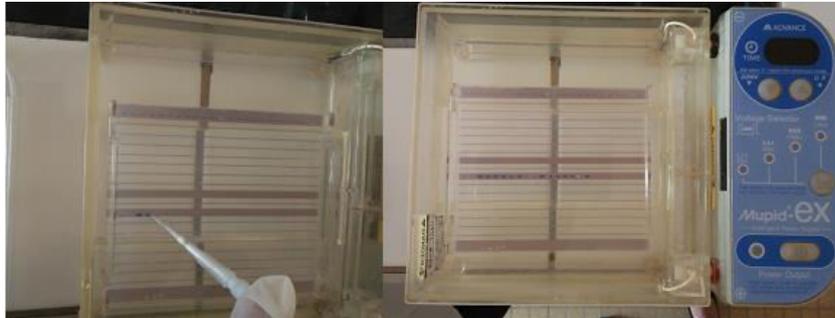


Figure 11 : Dépôt de l'échantillon

Enfin, Fermer la cuve et brancher les électrodes. Choisir le voltage à 135 et laisser migrer pendant 20 min, Après migration, placer le gel dans l'appareil UV réuni avec caméra et prendre une photo.

2.3.4. Le test amplicor® HPV haut risque

✓ Présentation du test

Le test HPV AMPLICOR® est un test qualitatif qui permet la détection du virus du papillome humain dans des échantillons cliniques. Ce test permet la détection des génotypes ADN du papillomavirus à haut risque (HR) 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68 dans des cellules cervicales prélevées en milieu liquide. Il utilise la méthode d'amplification de l'ADN cible appelée réaction de polymérisation en chaîne (PCR) ainsi qu'une hybridation de l'acide nucléique. Ce test permet d'amplifier l'ADN cible HPV et l'ADN β globine cellulaire (témoin cellulaire), c'est à dire que le mélange réactionnel contient des paires d'amorces spécifiques pour l'ADN de 13 génotypes HPV haut risque et pour l'ADN β globine. La détection de l'ADN amplifié (amplicon) est effectuée à l'aide de sondes oligonucléotidiques qui reconnaissent indépendamment l'amplicon HPV et l'amplicon β globine. L'identification de la β globine confirme la validité du test (**Roche Diagnostics, 2006**).

✓ Constitution du kit

- **ATL** (Tampon de lyse tissulaire) : Ethylène Diamine Tétra Acétique EDTA, sulfate de dodecyle et de sodium SDS.
- **PK** (protéinase K) : protéinase K, album Tritirachium protéinase sérine
- **CAR** (ARN porteur) : ARN de synthèse (protège l'ADN)
- **AVE** (tampon d'éluion) : eau sans RNase, azide de sodium (anti bactérien)
Il sert de diluant pour le CAR et en étant neutre il permet la séparation d'ADN de la silice.
- **AL** (Tampon de lyse) : hydrochlorure de guanidine
- **CLM** (Colonnes QIAamp[®] MinElute[®]) ; sous forme de minitube contenant à la base une membrane de silice) ;
- **AW2** (Tampon de lavage) : Tampon de Tris-HCL, azide de sodium
- **Témoin HPV positif** : Tampon de Tris-HCl, EDTA, azide de sodium, ADN plasmidique non infectieux (d'origine microbienne) contenant une séquence d'HPV 16, ADN plasmidique non infectieux (d'origine microbienne) contenant une séquence de bêta globine humain.
- **Témoin HPV négatif** : Tampon de Tris-HCl, EDTA, azide de sodium.
- **HPV MMX** (Mélange réactionnel HPV) :
 - Tampon de Tris, chlorure de potassium,
 - ADN polymérase AmpliTaq[®] Gold (enzyme thermorésistante d'origine microbienne catalyse l'amplification de l'ADN),
 - Enzyme AmpErase (uracile-N-glycosylase),
 - dNTP: dATP, dCTP, dGtp, dUTP,
 - Amorces (biotynilées), azide de sodium.
- **HPV MgCl₂** (Chlorure de magnésium HPV) : Chlorure de magnésium, colorant amarante, azide de sodium.
- **HPV MWP** (Microplaque pour HPV), microplaque équipée de sondes d'ADN pour HPV : 12 barrettes de microplaque à 8 puits.
- **BG MWP** (Microplaque pour bêta globine), microplaque équipée de sondes d'ADN pour bêta globine (B_PC03) : 12 barrettes de microplaque à 8 puits.
- **DN** (Solution de dénaturation) ; hydroxyde de sodium EDTA, Bleu de thymol.
- **HPV HYB** (Tampon d'hybridation HPV) ; solution de phosphate de sodium, solubilisant, thiocyanate de sodium.

- **AV-HRP** (conjugué avidine-peroxydase de raifort) : Tampon de Tris HCl, conjugué Gammaglobuline bovine (d'origine mammifère), Phénol, conservateur ProClin^β.
- **SUB A** (substrat A) ; solution de citrate, peroxydase d'hydrogène, conservateur ProClin[®].
- **SUB B** (substrat B) : Tétraméthylbenzidine (TMB), Diméthylformamide (DMF).
- **STOP** (réactif d'arrêt) : acide sulfurique
- **10 x WB** (concentré 10x de lavage) : tampon de phosphate, Chlorure de sodium, EDTA, détergent, conservateur ProClin[®].

✓ Procédure

Le test Amplicor HPV comporte 3 étapes principales :

- Extraction de l'ADN
- Amplification par PCR
- Détection des amplicons

a) Extraction de l'ADN

Au cours de ce travail l'étape d'extraction du kit Amplicor n'a pas été réalisée vu le manque de certains matériel, les étapes suivantes ont été réalisés à partir des extraits d'ADN d'une collection de LAMAABE de Docteur (NAHET Amira).

b) Amplification par PCR

- Préparer Le mélange réactionnel actif par ajout de MgCl₂ (contenant un colorant rose) au mélange MMX constitué de : l'ADN polymérase, les dNTP, les amorces biotynilés (pour ADN HPV haut risque et pour l'ADN β globine) et de l'eau.

➤ Remarque

Le colorant rose qui se trouve dans le MgCl₂. Permet de confirmer visuellement l'ajout du MgCl₂ au MqzaMX.

- Dans des tubes eppendorf l'échantillon (l'ADN extrait) est ajouté au mélange MMX (sachant que pour un tube on prépare 22,32 de MMX + 2,68 de MgCl₂ + 25 µl de témoin et de chaque échantillon).

- Ces tubes sont posés dans un plateau d'amplification qui est placé dans un bloc du thermocycleur. Ce dernier est programmé (programme Amplicor qui va durer 2 heures et 45 minutes), et qui états comme suite :

- Etape d'activation de l'enzyme : 50°C pendant 2 minutes.
 - Etape de dénaturation initiale : 95°C pendant 9 minutes.
 - Etape de dénaturation : 95°C pendant 30 secondes.
 - Etape d'hybridation : 54°C pendant 45 secondes.
 - Etape d'extension : 72°C pendant 30 secondes pour l'élongation.
 - Etape d'extension finale : 72°C pendant 10 minutes.
- } 40 cycles

- Une fois l'amplification terminée, retirer les échantillons et les témoins du thermocycleur, a présent les amplicons sont formés (gène β globine cellulaire et HPV haut risque, s'il est présent).

c) Détection

Dès que les échantillons et les témoins sont retirés, 50 μ l de dénaturant (qui est constitué de : l'EDTA, NaOH) est ajouté dans chaque tube. Laisser incuber 10 min à température ambiante pour permettre une dénaturation complète de l'ADN.

Les étapes qui suivent sont réalisées sur microplaque (deux types de microplaques sont utilisées : la HPV MWP et la BG MWP), prendre les barrettes et les installer dans le cadre de la microplaque en intercalant les barrettes qui contient 8 puits : des puits revêtus de sonde d'ADN pour HPV et des puits revêtus de sonde d'ADN de β globine.

- Ajouter 100 μ l de HPV Hyb (milieu favorisant l'hybridation) dans chaque puits de la microplaque.

- Déposer 25 μ l d'amplicons dénaturés de chaque échantillon dans les deux types de puits (25 μ l dans HPV MWP et 25 μ l BG MWP), tapoter le bord de la plaque jusqu'à ce que la couleur vire du bleu au jaune clair (ce changement de couleur indique que le mélange est suffisant).

- Couvrir la microplaque avec son couvercle, la laisser incubée 1heure à 37°C afin de favoriser l'hybridation.

- Rincer la microplaque 5 fois avec la solution de lavage déjà préparer (mettre 1 volume de WB (10 fois concentré) à 9 volumes d'eau distillée. Pour chaque barrette de microplaque, on prépare 40 ml de solution de lavage.

La solution de lavage est conservée entre 2 et 25 °C pendant 2 semaines dans un récipient fermé).

- Vider le contenu de la microplaque puis remplir chaque puits de la microplaque avec la solution de lavage. Laisser tremper pendant 30 secondes. Vider ensuite la microplaque et la tapoter pour l'égoutter, pour que les amplicons dénaturés soient retenus par la sonde. Le reste est éliminé. Répéter cette étape encore 4 fois.
- Ajouter 100 μ l de AV-HRP (conjugué d'avidine peroxydase de raifortt). Couvrir la plaque avec son couvercle et laisser incuber à 37°C pendant 15 min.

Etant donné que les amplicons sont biotynilés (amorces biotynilés), la biotine se fixe sur l'avidine conjuguée à la peroxydase de raifort.

- Une fois l'incubation terminée, laver la microplaque 5 fois.
- Ajouter 100 μ l de substrat actif déjà préparé (mélanger 2 ml de substrat A et 0,5 ml de substrat B pour 16 tests (2 barrettes)) dans chaque puits, laisser la coloration se développer vers le bleu pendant 10 min à Température ambiante en obscurité.
- Enfin, ajouter 100 μ l d'acide sulfurique c'est la solution d'arrêt (stop) pour arrêter la réaction.
- Lire la microplaque à 450 nm (nanomètre) par le spectrophotomètre de microplaque. Noter la valeur de l'absorbance pour chaque échantillon. La validité des résultats du test dépend de la validité des valeurs de l'absorbance des témoins de la série. Les valeurs A_{450} HPV et A_{450} β globine du témoin positif doivent être supérieures à 1, tandis que celles du témoin négatif doivent être inférieures à 0,2. Tout en suivant la notice de Roche diagnostic, toute valeur de l'absorbance supérieure ou égale à 0,2 désigne un résultat positif. Toute valeur de l'absorbance inférieure à 0,2 désigne un résultat négatif (**Roche Diagnostic, 2006**).

II. RÉSULTATS

1. Résultats de l'étude du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen

Sur les cinq dernières années (2012-2016), 499 cas de cancers cutané ont été colligés au niveau du service d'Épidémiologie - CHU de Tlemcen. Cette étude nous a permis contribuer à l'évaluation du profil épidémiologique des cancers cutanés au niveau de la wilaya de Tlemcen durant ces années.

1.1. Répartition des cancers cutanés par année

Cette courbe nous démontre que durant les cinq dernières années, les taux de cancers cutanés donnent un pic de 26,1% en 2012 puis le pic majeur a été obtenu au cours de l'année 2014 avec 27,1%, suivi d'une diminution des cancers cutanés allant jusqu'à 6.2% en 2016 (**Figure 12**).

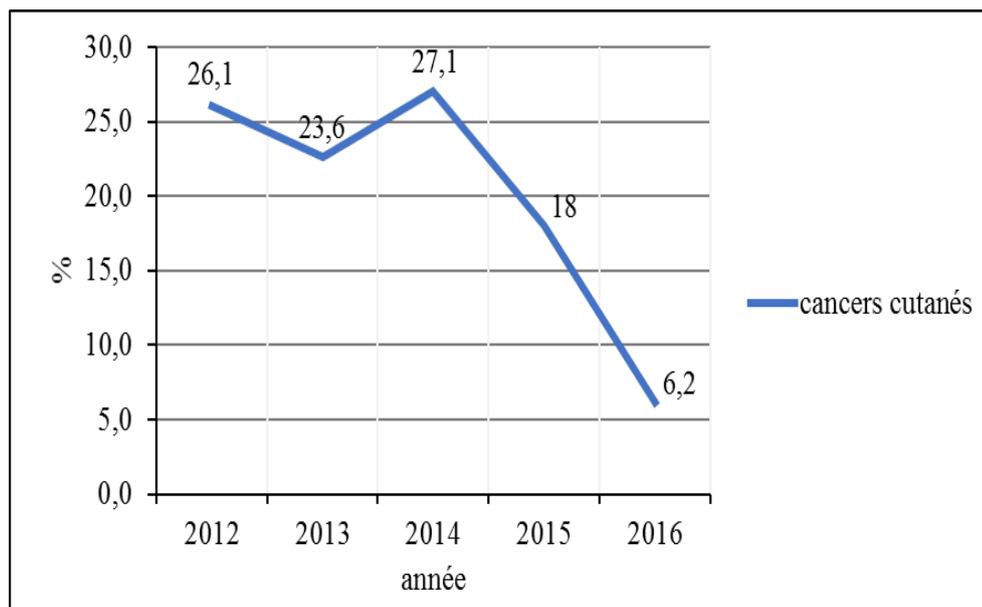


Figure 12 : Répartition des cancers cutanés entre l'année 2012 et 2016

1.2. Répartition selon l'âge des patients

Les cas de cancers colligés au Service ont une moyenne d'âge de 64 ans avec des extrêmes de 2 ans à 99 ans. Cet histogramme montre que les patients les plus touchés par le cancer cutané appartenant à la tranche d'âge de 60 à 70 ans. Il est par ailleurs intéressant de noter que 2,6% des patients ont moins de 30 ans (**Figure 13**).

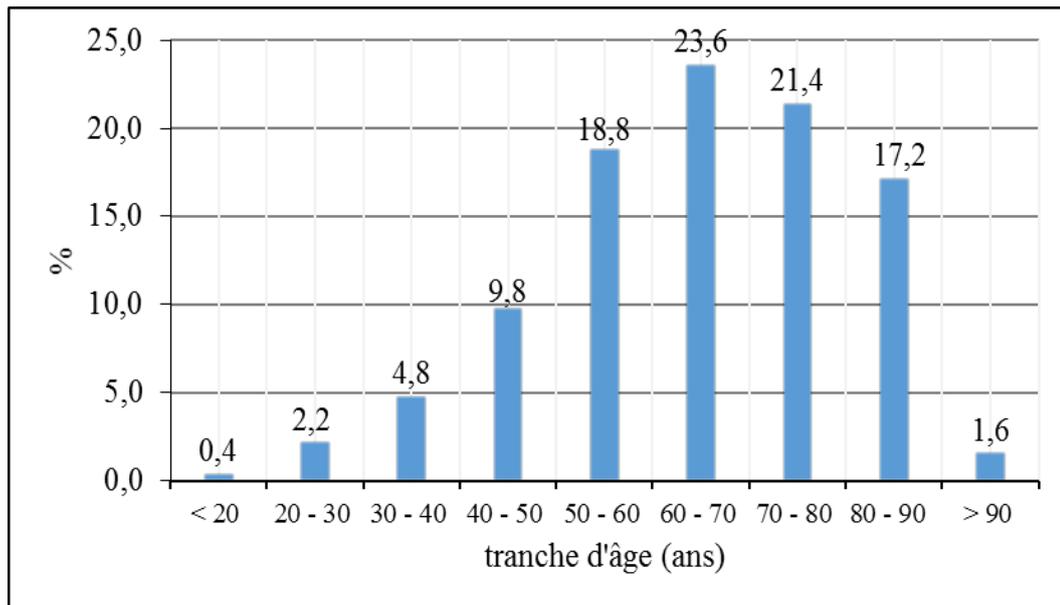


Figure 13 : Répartition des cancers cutanés selon les tranches d'âge

1.3. Répartition selon le sexe des patients

Ce secteur présente la répartition des patients durant les cinq dernières années selon leurs sexes, avec un sex-ratio été de 1,14. On remarque que les hommes sont les plus atteints par le cancer cutané, avec un taux de 53.3%, alors que le taux des femmes est de 46.7% (Figure 14).

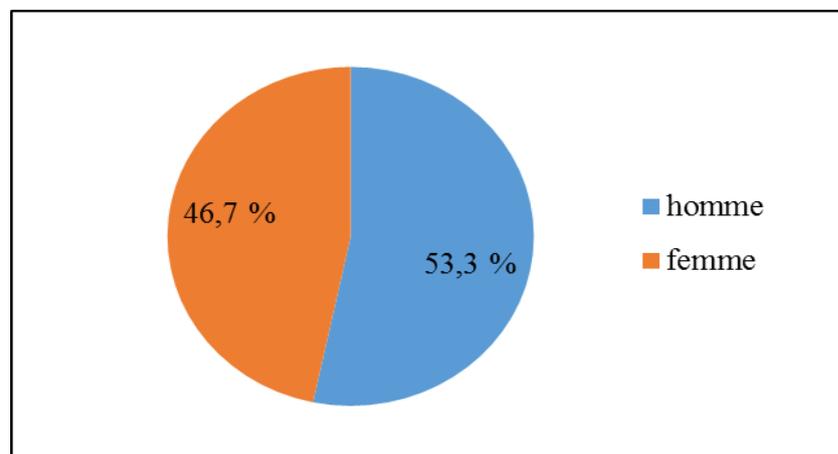


Figure 14 : Répartition selon le sexe des cancers cutanés entre 2012 et 2016

1.4. Répartition des cancers cutanés Selon la morphologie

Cette représentation graphique nous démontre que sur la totalité des cancers cutanés colligés 88,8% étaient de type carcinome (Figure 15).

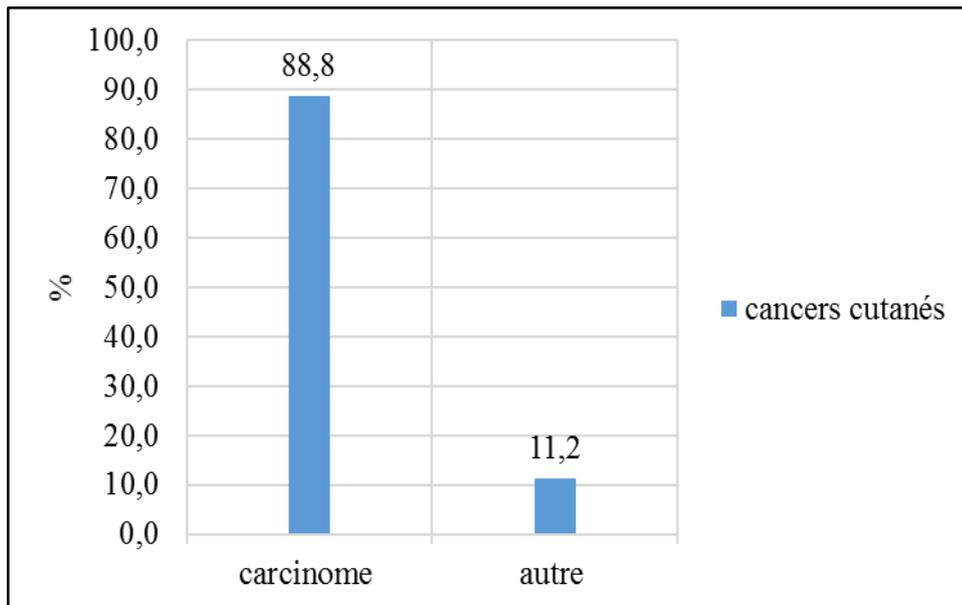


Figure 15 : Répartition des cancers cutanés selon la morphologie

1.5. Répartition des cancers cutanés Selon la localisation de la tumeur

Le secteur suivant présente les différentes localisations du cancer cutané, la peau sans aucune indication (SAI) est représenté par un taux majeur de 62,9%, suivie de la face SAI avec un taux de 18,3% (Figure 16).

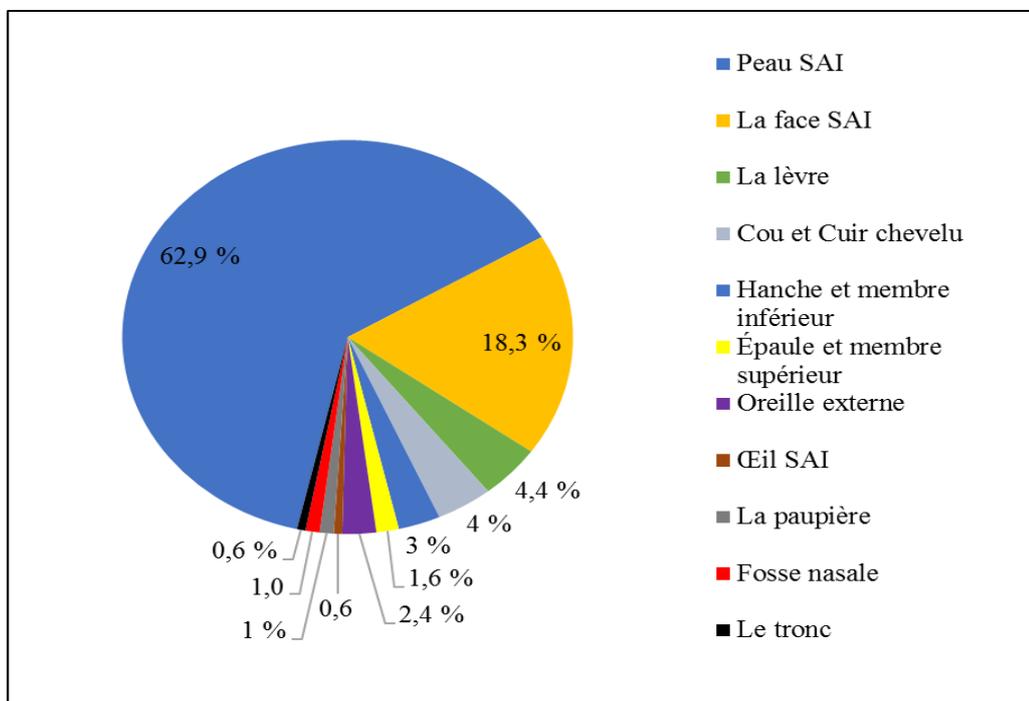


Figure 16 : Répartition des cancers cutanés selon la localisation de la tumeur

1.6. Répartition des cancers cutanés Selon le stade de diagnostic

Le secteur suivant présente la répartition des cancers cutanées par rapport à leurs stades de diagnostic, le stade local était enregistré à 24,8% du total, 1,3% était à un stade métastatique alors que 72,6% était indéterminé (**Figure 17**).

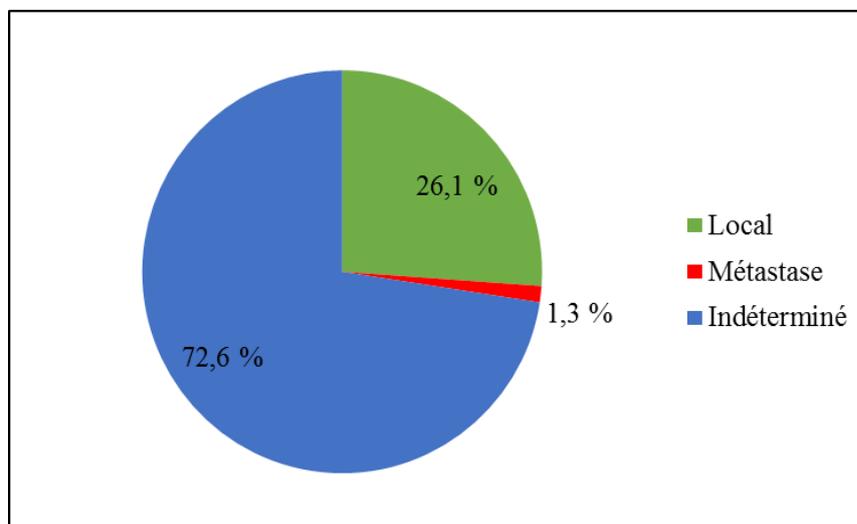


Figure 17 : Répartition des cancers cutanés selon le stade de diagnostic

1.7. Répartition des cancers cutanés selon la base de diagnostic

Ce secteur présente la répartition des cancers cutanées selon leurs bases de diagnostic, et on constate que la quasi-totalité des cancers ont été confirmés par examen histologique et sont de 96,6% (**Figure 18**).

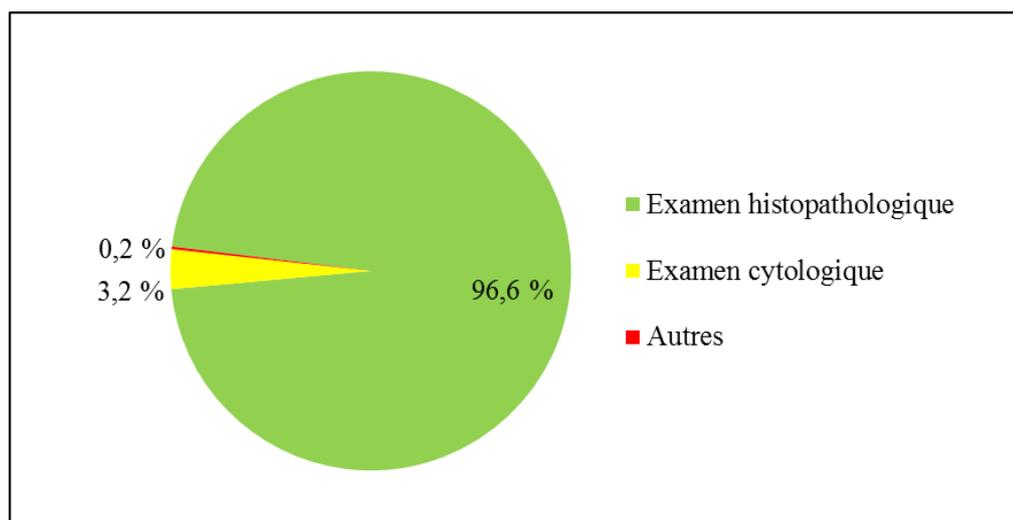


Figure 18 : Répartition des cancers cutanés selon la base de diagnostic

2. Résultats de la recherche d'HPV à partir des cancers cutanés par technique de PCR classique et test Amplicor® HPV

L'extraction de l'ADN par la procédure de salting out, nous a permis de visualiser la méduse d'ADN (**Figure 19**).



Figure 19 : La méduse d'ADN obtenu après extraction

Le contrôle de la qualité par spectrophotométrie a confirmé la bonne qualité de l'ADN car le ratio 260nm/280nm était compris entre 1,8 et 2 pour la majorité des prélèvements.

Le test Amplicor et la révélation sur gel d'agarose indiquant la présence de bandes pour les résultats positifs (**Figure 20**), étaient cohérents avec les résultats de docteur **NAHET Amira** réalisés dans un laboratoire à l'étranger et qui ont donné les résultats suivants (**Tableau 5**).

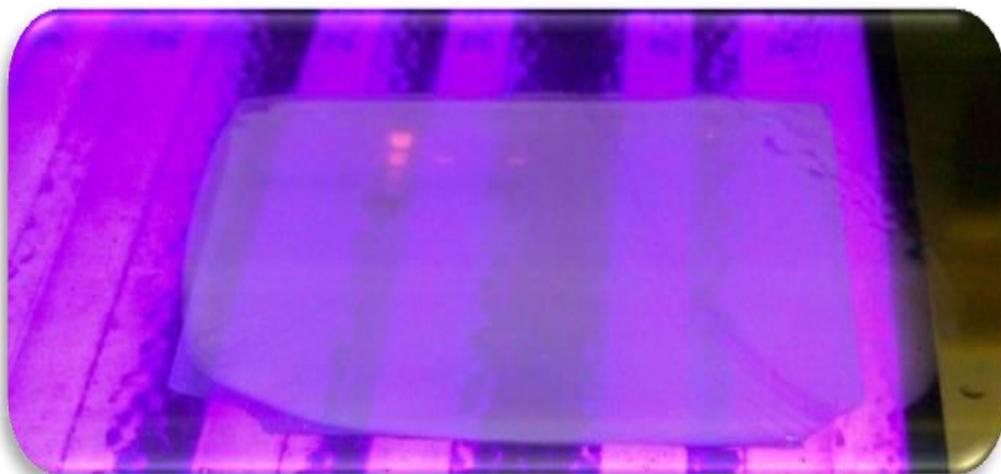


Figure 20 : profil d'électrophorèse après l'amplification par PCR sous UV

Tableau 5 : Génotypage des HPV dans des cancers de différentes localisations (Nahet *et al.*, 2016)

Localisation	Nombre	Age moyen (extrêmes, années)	Histopathologie	HPV positifs
Cancer cutané	36 (20 H/16 F)	40 (25-50)	31 spinocellulaires	2
			5 Bowen	0

Le tableau ci-dessus décrit les caractéristiques des patients (âge) et des tumeurs (histopathologie) ainsi que le statut HPV. Les cancers cutanés ont été diagnostiqués chez des patients d'âge moyen de 40 ans. Les 36 cancers cutanés observés chez 20 hommes et 16 femmes étaient majoritairement des carcinomes spinocellulaires (31 cas) ; 5 cas étaient des maladies de Bowen (cancer in situ) HPV négatifs, et 5,5 % (2/36) de l'ensemble des cas de cancer analysés (spinocellulaires et Bowen) sont positifs pour un HPV.

III. DISCUSSION

1. Discussion du profil épidémiologique des cancers cutanés dans la région de Tlemcen

Un effectif de 499 patients atteints de cancers cutanés au niveau de la willaya de Tlemcen entre les années 2012 et 2016 a fait l'objet de cette étude rétrospective dans le but de contribuer à l'évaluation de son profil épidémiologique. Cette dissection statistique nous a permis de constater que les taux de cancers cutanés étaient fréquents durant l'année 2014 avec un pic maximal de 27,1%. Ensuite une diminution considérable allant jusqu'à 6,2% en 2016.

Cette analyse statistique nous permis aussi de constater une augmentation de 88,8% des carcinomes cutanés contrairement au type mélanome qui n'a pas été enregistré au niveau du service d'Épidémiologie - CHU de Tlemcen alors que pour les autres cancers cutanés une prévalence de 11,2% a été enregistrée.

En Algérie, les données du registre des tumeurs du centre anticancéreux Pierre et Marie Curie (CPMC) révèlent 1.005 cas de cancer de la peau parmi le nombre total des cancers diagnostiqués, qui s'élève à plus de 30.000 cas enregistrés chaque année à l'échelle nationale. Les carcinomes basocellulaires représentent 75% des cancers cutanés suivi des carcinomes spinocellulaires avec 16,5% des cas et des lymphomes cutanés avec 8,5%. La majorité des patients 96,2 % ont bénéficié d'un traitement chirurgical, les structures hospitalières enregistrent entre 5 et 10 nouveaux cas de mélanomes chaque année.

Au Maghreb, des études épidémiologiques effectuées en 2014 ont révélé une prévalence de ce cancer de l'ordre de 10 à 15% par rapport aux années précédentes. Les carcinomes basocellulaires représentent 7% des cancers cutanés suivi des carcinomes spinocellulaires avec 16,5% des cas et des lymphomes cutanés avec 8,5%. La majorité des patients 96,2% ont bénéficié d'un traitement chirurgical (**Zemour et al., 2013**).

Dans le monde, ce type de cancer est en augmentation et, d'après les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 132.000 de mélanomes malins se déclarent chaque année. Une diminution de 10% de l'ozone stratosphérique entraînerait l'apparition de 4.500 mélanomes malins supplémentaires dans le monde.

Les pays tropicaux ou sub-tropicaux avec des périodes importantes d'ensoleillement ont des taux élevés de cancer de la peau, comme l'Australie, qui possède l'un des taux les plus élevés de la maladie dans le monde. De plus, l'Australie est un cas un peu particulier, car elle compte une importante population descendant de Britanniques à la peau claire, peu habitués à habiter naturellement dans un pays plus ou moins très chaud et ensoleillé. En Suisse, on compte environ 15.000 nouveaux cas de cancer de la peau, dont 1.900 à 2.000 mélanomes seraient diagnostiqués chaque année, et on compte environ 300 décès par an. En France, on enregistre chaque année environ 60.000 nouveaux cas de cancer de la peau non-mélanome, plus de 7.000 nouveaux cas de mélanome sont enregistrés chaque année, et avec 14 325 nouveaux cas de mélanomes cutanés projetés en 2015 et 1 773 décès, ce cancer représente 3,7% de l'ensemble des cancers incidents et 1,2% des décès par cancer, tous sexes confondus. Aux Etats-Unis, plus de 2 millions de personnes sont diagnostiquées d'un cancer de la peau chaque année, dont près de 30% sont des carcinomes épidermoïdes cutanés, et on compte plus de 76.000 diagnostics de mélanome. En 2016, on estimait dans le monde qu'une personne mourrait chaque 52 minute des conséquences d'un mélanome (malin), le nombre de cas de mélanome était en forte augmentation (**Institut national du cancer, 2016**).

Dans cette étude, l'âge moyen était de 64ans, dont la tranche d'âge la plus exposée est celle des patients âgés entre 60 et 70 ans avec un pic maximal de 23,6%, ce qui est en accord avec l'étude effectuée au Maroc, parmi 977 cas 26% de sujets de plus de 60 ans sont touchés par le cancer cutané (**Chbani et al., 2013**). Au monde, Le carcinome cutané survient souvent après l'âge de 50 ans (**Institut national du cancer, 2016**).

D'autre part, cette étude montre que les cancers cutanés touchent beaucoup plus les hommes que les femmes avec des taux de 53,3% et 46,7%. Ce qui est en accord avec la littérature. Les résultats d'une étude réalisée au Maroc avec 977 cas de cancer cutané étaient de 62,33% d'hommes et 37,66% de femmes (609 hommes et 368 femmes) (**Chbani et al., 2013**). Au monde, les hommes meurent davantage de mélanome que les femmes, selon des recherches du Cancer Research UK au Royaume-Uni le taux de mortalité du mélanome malin serait de 70% plus élevé chez les hommes que chez les femmes pour le même nombre de patients diagnostiqués. En France, 7.083 hommes et 7.242 femmes parmi les nouveaux cas de mélanomes cutanés projetés en 2015, et parmi les décès 1.033

hommes et 740 femmes, Les raisons de cette différence entre sexes ne sont pas encore claires, peut-être un dépistage plus tardif chez les hommes ou des origines biologiques.

Dans cette étude, selon le stade de diagnostic des cancers cutanés, le stade local était enregistré à 24,8% du total, 1,3% était à un stade métastatique alors que 72,6% était indéterminé, ce qui est en accord avec la littérature où plusieurs études, montrent que 5-20% dégénèrent en 10-25 ans en un carcinome spinocellulaire invasif, qui peut faire des métastases locales, régionales et à distance, 80% par le système lymphatique. Il est toutefois un bon pronostic et un risque métastatique faible, estimé à 2,3% à 5 ans et 2-5% à 10 ans sur les endroits exposés au soleil. 30-50% des patients ayant un CSC ont un risque 10 fois plus élevé que la population normale de développer un autre carcinome spinocellulaire ou un carcinome basocellulaire. Ils courent également un plus grand risque de mélanome (**Jenni et Hofbauer, 2013**).

2. Discussion de la recherche d'HPV à partir des cancers cutanés

Un effectif de 36 cas atteints de cancers cutanés a fait l'objet de cette étude qui a porté sur la recherche d'ADN d'HPV, a révélé que 5,5% des cas de cancer analysés (2/36) sont positifs en HPV pour laquelle ces données sont quasi inexistantes. Ils étaient de type carcinomes spinocellulaires (CSC) ce qui est en accord avec la littérature.

Si la présence d'HPV alpha est modeste dans le réservoir viral que représente le follicule pileux en peau saine, de l'ordre de 4 % (**Biver-Dalle et al., 2010**), leur détection est beaucoup plus fréquente dans les cancers de la peau non mélaniques, de 25 à 60 % des cas, notamment en fonction du type histologique [(**Cairey-Remonnay et al., 2002**) ; (**Iftner et al., 2003**)].

Naturellement, ce sont les HPV bêta et gamma infectant préférentiellement la peau et classiquement dénommés HPV cutanés qui sont le plus souvent détectés en peau saine et des études complémentaires pourraient être entreprises pour étudier leur prévalence dans notre série.

Même si une récente méta analyse montre que la prévalence d'HPV est significativement plus importante dans les tumeurs qu'en peau saine (**Wang et al., 2014**), le rôle physiopathologique des infections cutanées par des HPV dans la genèse des cancers reste débattu.

En effet, les conditions géographiques et météorologiques de la région de Tlemcen, caractérisées par un ensoleillement important et prolongé pendant une longue période de l'année sont sans aucun doute responsables de ces tumeurs. Les HPV pourraient n'être que des co-facteurs qui, associés aux ultraviolets ou à un déficit immunitaire, favoriseraient la survenue de dermatoses sévères telles que celles observées dans l'épidermodysplasie verruciforme pouvant conduire au développement d'un cancer cutané.

CONCLUSION

ET PERSPECTIVES

L'infection par HPV est extrêmement répandue dans l'espèce humaine puisque virtuellement tous les individus sont exposés à ces virus, De nombreux types d'HPV peuvent être retrouvés sur la peau normale, ainsi que dans des lésions cutanées bénignes ou malignes (Louie *et al.*, 2008). A l'heure actuelle, entre 2 et 3 millions de cancers cutanés non mélanocytaires et 132 000 mélanomes malins sont enregistrés chaque année dans le monde (OMS, 2017).

Cette étude rétrospective portant sur un effectif de 499 cancers cutanés colligés au niveau du service d'Épidémiologie du CHU de Tlemcen entre 2012 et 2016, nous a permis de constater une prédominance chez le sexe masculin et la tranche d'âge des patients âgés entre 60 et 70 ans, avec une prévalence accrue de 88,8% des carcinomes par rapport aux autres cancers cutanés.

La recherche d'ADN d'HPV par PCR sur 36 cancers réalisée chez 20 hommes et 16 femmes étaient dans leurs majorités des carcinomes spinocellulaires (31 cas) dont 2 cas sont positifs en HPV, 5 cas étaient des maladies de Bowen (cancer *in situ*) HPV négatifs. La faible prévalence d'HPV dans ces cancers cutanés, laisse à penser qu'elles sont associées à d'autres facteurs de risque dans la population algérienne.

Dans certains pays, il y a un rapport étroit entre l'augmentation de l'incidence de ces cancers et la diminution de la latitude, c'est-à-dire une intensité du rayonnement UV plus forte (OMS, 2017). Les conditions géographiques et météorologiques de l'ouest algérien, et plus spécifiquement de la région de Tlemcen, caractérisées par un ensoleillement important et prolongé pendant une longue période de l'année sont sans aucun doute responsables de ces tumeurs. Les HPV pourraient n'être que des co-facteurs qui, associés aux ultraviolets ou à un déficit immunitaire, des études épidémiologiques avec une exploration de ces facteurs de risque, devraient permettre de mieux appréhender l'étiologie de ces cancers et de proposer des actions de santé.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant :

- ✓ D'augmenter l'échantillonnage dans les futures recherches afin d'obtenir des meilleurs résultats et pour mieux comprendre le lien de causalité entre l'HPV et les cancers cutanés dans notre région.
- ✓ Effectuer le génotypage pour déterminer la distribution des types d'HPV dans les cancers cutanés.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

- ✓ Intégration des techniques de biologie moléculaire dans la pratique quotidienne en milieu hospitalier : diagnostic de certitude des cancers cutanés, pronostic et suivi des maladies cancéreuses cutanés, adaptation et orientation thérapeutiques.
- ✓ Promouvoir la documentation méticuleuse des dossiers cliniques des patients afin de faciliter le traitement de ces derniers en vue d'établir des mesures de préventions adéquates qui cibleraient les facteurs déclenchant de ces néoplasies puisqu'on a constaté une recrudescence importante de ces cancers au cours de ces dernières années en Algérie.
- ✓ Favoriser le développement du secteur de recherche au niveau des laboratoires de biologie moléculaire en finançant les infrastructures nécessaires et pour permettre aux chercheurs de trouver des solutions concrètes à ces pathologies.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abreu, A. L., Souza, R. P., Gimenes, F., & Consolaro, M. E. (2012).** A Review Of Methods For Detect Human Papillomavirus Infection. *Virology Journal*, 9(1), 262.
2. **Agius, G. (2006).** Ct6-2: Infection A Papillomavirus Humains Du Col De L'uterus:(1) Enquete Epidemiologique Dans Un Centre De Sante De La Securite Sociale,(2) Experience Diagnostique Au Chu De Poitiers. *Medecine Et Maladies Infectieuses*, 36, S18.
3. **Alain, S., Hantz, S., & Denis, F. (2010).** Papillomavirus: Les Virus Et La Physiopathologie De L'infection. *Médecine Thérapeutique/Pédiatrie*, 13(1), 5-19.
4. **Armstrong, B. K., & Kricger, A. (2001).** The Epidemiology Of Uv Induced Skin Cancer. *Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology*, 63(1), 8-18.
5. **Ashrafi, G. H., Haghshenas, M. R., Marchetti, B., O'brien, P. M., & Campo, M. S. (2005).** E5 Protein Of Human Papillomavirus Type 16 Selectively Downregulates Surface Hla Class I. *International Journal Of Cancer*, 113(2), 276-283.
6. **Aubin, F., Pretet, J.L. Et Mouglin, C.H. (2003).** Papillomavirus Humains - Biologie Et Pathologie Tumorale. Editions Em Inter, Editions Tec & Doc.
7. **Aubin, F., Pretet, J. L., Mouglin, C. (2014).** Infection Cutanée Par Les Papillomavirus Humains. *Dermatologie Infectieuse*, Pp. 55-61.
8. **Badoual, C., Tartour, E., Roussel, H., Bats, A. S., Pavie, J., Pernot, S., ... & Péré, H. (2015).** Impact De L'hpv (Human Papilloma Virus) Dans Les Carcinomes Autres Que Gynécologiques. *La Revue De Médecine Interne*, 36(8), 540-547.
9. **Baldauf, J. J., Averous, G., Baulon, E., Thoma, V., Talha-Vautravers, A., Sananes, N., & Akladios, Y. C. (2013).** Neoplasias Intraepiteliales Del Cuello Uterino. *Emc-Ginecología-Obstetricia*, 49(3), 1-23.
10. **Beby-Defaux A, Dalstein V, Agius G. (2015).** Papillomavirus Humains (Hpv). In: Société Française De Microbiologie, Section De Microbiologie Clinique, Groupe Rémic, Bourlet T, Courcol R, Herrmann J-L, Et Al., Editeurs. Rémic: Référentiel En Microbiologie Médicale. Paris: Société Française De Microbiologie; P. 705-10.
11. **Bessis, D., Francès, C., Guillot, B., & Guilhou, J. J. (2009).** *Manifestations Dermatologiques Des Maladies Du Système Hématopoïétique Et Oncologie Dermatologique: Dermatologie Et Médecine, Vol. 3 (Vol. 3).* Springer Science & Business Media.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

12. **Biver-Dalle, C., Gheit, T., Drobacheff-Thiebaut, C., Vidal, C., Tommasino, M., Humbert, P., ... & Aubin, F. (2010).** Detection Of Human Papillomavirus Dna In Plucked Eyebrow Hair From Hiv-Infected Patients. *Journal Of Investigative Dermatology*, Epub-Ahead.
13. **Blanc, B. (2005).** *Le Dépistage Du Cancer Du Col De L'utérus*. Springer Science & Business Media.
14. **Bocquet, H., & Bagot, M. (2004).** Lésions Tumorales Bénignes Associées Aux Papillomavirus Humains. *Emc-Dermatologie-Cosmétologie*, 1(2), 97-112.
15. **Bousarghin, L., Touze, A., Gaud, G., Iochmann, S., Alvarez, E., Reverdiau, P., ... & Coursaget, P. L. (2009).** Inhibition Of Cervical Cancer Cell Growth By Human Papillomavirus Virus-Like Particles Packaged With Human Papillomavirus Oncoprotein Short Hairpin Rnas. *Molecular Cancer Therapeutics*, 8(2), 357-365.
16. **Bulkmans, N. W. J., Berkhof, J., Bulk, S., Bleeker, M. C. G., Van Kemenade, F. J., Rozendaal, L., ... & Meijer, C. J. L. M. (2007).** High-Risk Hpv Type-Specific Clearance Rates In Cervical Screening. *British Journal Of Cancer*, 96(9), 1419-1424.
17. **Cairey-Remonnay, S., Humbey, O., Mougin, C., Algros, M. P., Mauny, F., Kanitakis, J., ... & Aubin, F. (2002).** Tp53 Polymorphism Of Exon 4 At Codon 72 In Cutaneous Squamous Cell Carcinoma And Benign Epithelial Lesions Of Renal Transplant Recipients And Immunocompetent Individuals: Lack Of Correlation With Human Papillomavirus Status. *Journal Of Investigative Dermatology*, 118(6), 1026-1031.
18. **Carcopino, X., Henry, M., Olive, D., Boubli, L., Tamalet, C. (2011).** Détection Et Quantification Des Infections Génitales A Papillomavirus Humains: Conséquences Virologiques, Epidémiologiques Et Cliniques. *Médecine Et Maladies Infectieuses*, Vol. 41, Pp. 68-79.
19. **Chbani, L., Hafid, I., Berraho, M., Mesbahi, O., Nejjari, C., & Amarti, A. (2013).** Aspects Epidémiologiques Et Anatomopathologiques Des Cancers Dans La Région De Fès-Boulemane (Maroc). *Eastern Mediterranean Health Journal*, 19(3), 263.
20. **Clavel, C., Dalstein, V., & Birembaut, P. (2008).** Stratégies De Dépistage Des Lésions Précancéreuses Du Col De L'utérus: Cytologie Ou Test Hpv?. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(405), 57-65.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

21. Cullen, M., Boland, J. F., Schiffman, M., Zhang, X., Wentzensen, N., Yang, Q., ... & Bass, S. (2015). Deep Sequencing Of Hpv16 Genomes: A New High-Throughput Tool For Exploring The Carcinogenicity And Natural History Of Hpv16 Infection. *Papillomavirus Research*, 1, 3-11.
22. Dalstein, V., Briolat, J., Birembaut, P., & Clavel, C. (2007). Méthodes De Pcr. Apport De L'amplicor Et Du Génotypage. In *Traité Des Infections Et Pathologies Génitales A Papillomavirus* (Pp. 47-53). Springer Paris.
23. De Koning, M. N., Weissenborn, S. J., Abeni, D., Bavinck, J. N. B., Euvrard, S., Green, A. C., ... & Proby, C. M. (2009). Prevalence And Associated Factors Of Betapapillomavirus Infections In Individuals Without Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. *Journal Of General Virology*, 90(7), 1611-1621.
24. De Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D., & Plummer, M. (2012). Global Burden Of Cancers Attributable To Infections In 2008: A Review And Synthetic Analysis. *The Lancet Oncology*, 13(6), 607-615.
25. Dessaigne, B. (2011). *Détection Moléculaire Des Papillomavirus Humains Dans Les Tissus Sains Et Tumoraux Des Cancers De L'oropharynx* (Doctoral Dissertation, Thèse D'exercice: Pharmacie: Grenoble: 2011).
26. Dgs, C. (2008). Direction Générale De La Santé, Comité Technique Des Vaccinations. *Guide Des Vaccinations. Edition*.
27. Doorbar, J. (2005). The Papillomavirus Life Cycle. *Journal Of Clinical Virology*, Vol. 32, Pp. 7-15.
28. Doorbar, J. (2006). Molecular Biology Of Human Papillomavirus Infection And Cervical Cancer. *Clinical Science*, 110(5), 525-541
29. Doorbar, J., Quint, W., Banks, L., Bravo, I. G., Stoler, M., Broker, T. R., & Stanley, M. A. (2012). The Biology And Life-Cycle Of Human Papillomaviruses. *Vaccine*, 30, F55-F70.
30. Eide, M. L., & Debaque, H. (2012, December). Méthodes De Détection Des Hpv Et Techniques De Génotypage Dans Le Dépistage Du Cancer Du Col Utérin. In *Annales De Pathologie* (Vol. 32, No. 6, Pp. 401-409). Elsevier Masson.
31. Einstein, M. H., Schiller, J. T., Viscidi, R. P., Strickler, H. D., Coursaget, P., Tan, T., ... & Jenkins, D. (2009). Clinician's Guide To Human Papillomavirus Immunology: Knowns And Unknowns. *The Lancet Infectious Diseases*, 9(6), 347-356.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

32. Elwood, J. M., & Jopson, J. (1997). Melanoma And Sun Exposure: An Overview Of Published Studies. *International Journal Of Cancer*, 73(2), 198-203.
33. Euvrard, S., Kanitakis, J., & Claudy, A. (2003). Skin Cancers After Organ Transplantation. *New England Journal Of Medicine*, 348(17), 1681-1691.
34. Frazer, I. (2007). Correlating Immunity With Protection For Hpv Infection. *International Journal Of Infectious Diseases*, 11, S10-S16.
35. Galan-Sanchez, F. A. T. I. M. A., & Rodriguez-Iglesias, M. A. (2009). Comparison Of Human Papillomavirus Genotyping Using Commercial Assays Based On Pcr And Reverse Hybridization Methods. *Apmis*, 117(10), 708-715.
36. Gavillon, N., Vervaet, H., Derniaux, E., Terrosi, P., Graesslin, O., & Quereux, C. (2010). Papillomavirus Humain (Hpv): Comment Ai-Je Attrapé Ça?. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 38(3), 199-204.
37. Gil, L. A. (2007). Pcr-Based Methods For Fish And Fishery Products Authentication. *Trends In Food Science & Technology*, 18(11), 558-566.
38. Guihard, S., Jung, A. C., & Noël, G. (2012). Carcinomes Epidermoïdes Oropharyngés Liés A L'infection Par Les Papillomavirus Humains De Haut Risque Oncogénique: Aspects Cliniques, Biologiques Et Perspectives Thérapeutiques. *Cancer/Radiothérapie*, 16(1), 34-43.
39. Habchi, Z. B., & Benbayer, W. (2014). Regulation De L'expression Du Gene De La Glutamine: Fructose-6-Phosphate Amidotransferase Par Le Glucose Et La Glutamine Dans La Lignée Cellulaire Caco2/Tc7. *Technologies De Laboratoire*, 8(35).
40. Howley, P. M., & Lowy, D. R. (2007). Papillomaviruses, P 2299–2354. *Fields Virology, 5th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa.* Humain Chez Des Adolescentes Sexuellement Actives De La Ville D'ouagadougou. Thèse De Doctorat. Université De Ouagadougou, Ouagadougou.
41. Hsieh, R., Firmiano, A., & Sotto, M. N. (2009). Expression Of P16 Protein In Acral Lentiginous Melanoma. *International Journal Of Dermatology*, 48(12), 1303-1307.
42. Iftner, A., Klug, S. J., Garbe, C., Blum, A., Stancu, A., Wilczynski, S. P., & Iftner, T. (2003). The Prevalence Of Human Papillomavirus Genotypes In Nonmelanoma Skin Cancers Of Nonimmunosuppressed Individuals Identifies High-Risk Genital Types As Possible Risk Factors. *Cancer Research*, 63(21), 7515-7519.
43. Institut National Du Cancer (Inc). (2017). Le Développement D'un Mélanome De La Peau.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

44. **Jacobelli, S., Laude, H., Carlotti, A., Rozenberg, F., Deleuze, J., Morini, J. P., ... & Dupin, N. (2011).** Epidermodysplasia Verruciformis In Human Immunodeficiency Virus–Infected Patients: A Marker Of Human Papillomavirus–Related Disorders Not Affected By Antiretroviral Therapy. *Archives Of Dermatology*, 147(5), 590-596.
45. **Jenni, D., & Hofbauer, G. F. (2013).** Carcinome Spinocellulaire–Un Cancer Blanc De La Peau Ne Vient Que Rarement Seul.
46. **Kanodia, S., Fahey, L. M., & Kast, W. M. (2007).** Mechanisms Used By Human Papillomaviruses To Escape The Host Immune Response. *Current Cancer Drug Targets*, 7(1), 79-89.
47. **Kwok, C. S., Gibbs, S., Bennett, C., Holland, R., & Abbott, R. (2012).** Topical Treatments For Cutaneous Warts. *The Cochrane Library*.
48. **Lazarczyk, M., Dalard, C., Hayder, M., Dupre, L., Pignolet, B., Majewski, S., ... & Liblau, R. S. (2012).** Ever Proteins, Key Elements Of The Natural Anti-Human Papillomavirus Barrier, Are Regulated Upon T-Cell Activation. *Plos One*, 7(6), E39995.
49. **Lear, W., Dahlke, E., & Murray, C. A. (2007).** Basal Cell Carcinoma: Review Of Epidemiology, Pathogenesis, And Associated Risk Factors. *Journal Of Cutaneous Medicine And Surgery*, 11(1), 19-30.
50. **Louie, K., Didelot, M. N., Damay, A., Nagot, N., Mayaud, P., & Segondy, M. (2008).** Papillomavirus Humains (Hpv) Et Cancers Associés: Aspects Epidémiologiques. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(405), 27-34.
51. **Mansour C. Human Papillomaviruses. (2005)** In : Tyring S, Ed. *Mucocutaneous Manifestations Of Viral Diseases*.
52. **Marechal, V., Quignon, F. (2013).** Virus Et Cancers Humains: Des Virus Modèles Aux Nouvelles Etiologies. *Revue Francophone Des Laboratoires*, Vol. 456, Pp. 37-46.
53. **Marte B, Finkelstein J, Anson L (2007)** Skin Biology. *Nature* 445:833-833
54. **Miller, A. J. (2006).** Miller Aj, Mihm Mc, Jr. *Melanoma. N. Engl. J. Med*, 355(1), 51-65.
55. **Missaoui, N., Hmissa, S., Sankaranarayanan, R., Deodhar, K., Nene, B., Budukh, A., ... & Chauhan, M. (2010, July).** La Surexpression De P16 Ink4a Est Un Marqueur Utile Des Lésions Du Col Utérin. In *Annales De Biologie Clinique* (Vol. 68, No. 4, Pp. 409-414).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

56. Modis, Y., Trus, B, L., Harrison, S, C. (2002). Atomic Model Of The Papillomavirus Capsid. *Embo J*, Vol. 21, Pp. 4754-4762.
57. Monsonogo, J. (2006). Etat Des Connaissances Et Perspectives Pour La Pratique Clinique. *Infections A Papillomavirus: Etat Des Connaissances, Pratiques Et Prévention Vaccinale*, 213-240.
58. Monsonogo, J. (2007). Condylomes Acuminés Génitaux Externes. In *Traité Des Infections Et Pathologies Génitales A Papillomavirus* (Pp. 393-403). Springer Paris.
59. Morel, P. (2001). *La Dermatologie Du Généraliste*. Springer Science & Business Media.
60. Moscicki, A. B., Ma, Y., Jonte, J., Miller-Benningfield, S., Hanson, E., Jay, J., ... & Shiboski, S. (2010). The Role Of Sexual Behavior And Human Papillomavirus Persistence In Predicting Repeated Infections With New Human Papillomavirus Types. *Cancer Epidemiology And Prevention Biomarkers*, 19(8), 2055-2065.
61. Mougin, C., Nicolier, M., & Decrion-Barthod, A. Z. (2008). Hpv Et Cancers: Mécanismes De L'oncogénèse. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(405), 35-42.
62. Moy, R. L. (2000). Clinical Presentation Of Actinic Keratoses And Squamous Cell Carcinoma. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 42(1), S8-S10.
63. Nahet, A., Boublenza, L., Hassaine, H., Masdoua, N., Prétet, J. L., Belglaiiaa, E., & Mougin, C. (2016). Le Génotypage D'adn D'hpv: Une Étude De Cancers Ano-Génitaux, De Cancers Des Vads Et De Cancers Cutanés Dans La Population De L'ouest Algérien. Détection D'hpv Dans Différents Cancers Dans La Population De L'ouest Algérien. *Bulletin Du Cancer*, 103(5), 455-460.
64. Ollier, L., & Giordanengo, V. (2008). Méthodes De Détection Et D'identification Des Hpv. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2008(405), 51-55.
65. Oms. (2017). Cancers Cutanés.
66. Palefsky, J. (2009). Human Papillomavirus-Related Disease In People With Hiv. *Current Opinion In Hiv And Aids*, 4(1), 52.
67. Proby, C. M., Harwood, C. A., Neale, R. E., Green, A. C., Euvrard, S., Naldi, L., ... & Waterboer, T. (2011). A Case–Control Study Of Betapapillomavirus Infection And Cutaneous Squamous Cell Carcinoma In Organ Transplant Recipients. *American Journal Of Transplantation*, 11(7), 1498-1508.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

68. **Rahimy, R. M. L. (2014).** Portage Des Génotypes A Haut Risque Du Papillomavirus.
69. **Riddel, C., Rashid, R., & Thomas, V. (2011).** Ungual And Periungual Human Papillomavirus–Associated Squamous Cell Carcinoma: A Review. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 64(6), 1147-1153.
70. **Rigel, D. S. (2008).** Cutaneous Ultraviolet Exposure And Its Relationship To The Development Of Skin Cancer. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 58(5), S129-S132.
71. **Roche Diagnostic. (2006)** Amplicor Humain Papillomavirus Virus (Hpv), Test. Roche Molecular Systems, Inc.
72. **Roewert-Huber, J., Lange-Asschenfeldt, B., Stockfleth, E., & Kerl, H. (2007).** Epidemiology And Aetiology Of Basal Cell Carcinoma. *British Journal Of Dermatology*, 157(S2), 47-51.
73. **Rogers, H. D., Macgregor, J. L., Nord, K. M., Tyring, S., Rady, P., Engler, D. E., & Grossman, M. E. (2009).** Acquired Epidermodysplasia Verruciformis. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 60(2), 315-320.
74. **Sandri, M. T., Lentati, P., Benini, E., Dell'orto, P., Zorzino, L., Carozzi, F. M., ... & Boveri, S. (2006).** Comparison Of The Digene Hc2 Assay And The Roche Amplicor Human Papillomavirus (Hpv) Test For Detection Of High-Risk Hpv Genotypes In Cervical Samples. *Journal Of Clinical Microbiology*, 44(6), 2141-2146.
75. **Segondy, M. (2013).** Papillomavirus Et Cancer. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2013(456), 57-66.
76. **Sri, J. C., Dubina, M. I., Kao, G. F., Rady, P. L., Tyring, S. K., & Gaspari, A. A. (2012).** Generalized Verrucosis: A Review Of The Associated Diseases, Evaluation, And Treatments. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 66(2), 292-311.
77. **Uhlenhake, E. E., Sanguenza, O. P., Lee, A. D., & Jorizzo, J. L. (2010).** Spreading Pigmented Actinic Keratosis: A Review. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 63(3), 499-506.
78. **Wallach, D. (2007).** Guide Pratique De Dermatologie. Issy-Les-Moulineaux : Elsevier Masson.
79. **Wang, J., Aldabagh, B., Yu, J., & Arron, S. T. (2014).** Role Of Human Papillomavirus In Cutaneous Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Journal Of The American Academy Of Dermatology*, 70(4), 621-629.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

80. **White, G. (2004).** *Atlas En Couleurs De Dermatologie*. 3ème. Paris : Maloine.
81. **Winters, U., Daayana, S., Lear, J. T., Tomlinson, A. E., Elkord, E., Stern, P. L., & Kitchener, H. C. (2008).** Clinical And Immunologic Results Of A Phase Ii Trial Of Sequential Imiquimod And Photodynamic Therapy For Vulval Intraepithelial Neoplasia. *Clinical Cancer Research*, 14(16), 5292-5299.
82. **Zemour, L., Belghitri, A., Kerkeb, K., Moualim, A., Salah, H., Ayad, L. A., ... & Midoun, N. (2013).** Epidémiologie Des Cancers Cutanés Pris En Charge A L'établissement Hospitalier Et Universitaire D'oran, Algérie. *Revue D'épidémiologie Et De Santé Publique*, 61, S291.
83. **Zur Hausen, H. (2002).** Papillomaviruses And Cancer: From Basic Studies To Clinical Application. *Nature Reviews Cancer*, Vol. 2, Pp. 342-350.



Annexe 1 : les différentes formes de verrues (Aubin *et al.*, 2014)

- a- Verrue digitales ; b- Verrue plantaire à type de myrmécie ;**
- b- Verrues plantaires en mosaïque ; d- Verrues planes du dos de la main ;**
- e- Verrues périunguéales ; f- Verrues profondes chez un boucher ;**
- g- Verrue filiforme**

Annexe 2 : Répartition des cancers cutanés par année

Année	Nombre de cas	%
2012	130	26,1
2013	113	22,6
2014	135	27,1
2015	90	18,0
2016	31	6,2

Annexe 3 : Répartition selon l'âge des patients

Tranche d'âge	Nombre de cas	%
< 20	2	0,4
20 - 30	11	2,2
30 - 40	24	4,8
40 - 50	49	9,8
50 - 60	94	18,8
60 - 70	118	23,6
70 - 80	107	21,4
80 - 90	86	17,8
>90	8	1,6

Annexe 4 : Répartition selon le sexe des patients

Sexe	Nombre de cas	%
Homme	266	53,3
Femme	233	46,7

Annexe 5 : Répartition des cancers cutanés Selon la morphologie

Morphologie	Nombre de cas	%
Carcinome	443	88,8
Autre	56	11,2

Annexe 6 : Répartition des cancers cutanés Selon la localisation de la tumeur

Localisation de la tumeur	Nombre de cas	%
Peau SAI	312	62,9
La face SAI	91	18,3
La lèvre	22	4,4
Cou et Cuir chevelu	20	4,0
Hanche et membre inférieur	15	3,0
Épaule et membre supérieur	8	1,6
Oreille externe	12	2,4
Œil SAI	3	0,6
La paupière	5	1,0
Fosse nasale	5	1,0
Le tronc	3	0,6

Annexe 7 : Répartition des cancers cutanés Selon le stade de diagnostic

Stade de diagnostic	Nombre de cas	%
Local	121	26,1
Métastase	6	1,3
Indéterminé	336	72,6

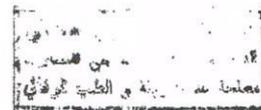
Annexe 8 : Répartition des cancers cutanés selon la base de diagnostic

Base de diagnostic	Nombre de cas	%
Examen histologique	482	96,6
Examen cytologique	16	3,2
Autres	1	0,2

Centre Hospitalier Universitaire Tedjini Damerdjii
Service d'Epidémiologie et de Médecine Préventive

REGISTRE DU CANCER DE TLEMCCEN

1. N° de matricule :
2. Source d'information :
 01. CHU Tlemcen, service de..... / / /
 30. Hôpital public de.....
 50. Laboratoire privé 60. Clinique privée
 40. CNASSAT 70. Réseaux 99. Inconnue
3. Dossier médical :
4. Nom :
5. Prénoms :
6. Sexe :
7. Date de naissance :
8. Lieu de naissance :
9. Age :
10. Adresse exacte :
11. Profession :
12. Date de diagnostic :
13. Base de diagnostic : 0. Certificat de décès uniquement 1. Clinique seulement
 2. Clinique/Imagerie 3. Chir/Autopsie exploratrice
 4. Marqueurs tumoraux spécifiques 5. Cytologie/Examen cellulaire
 6. Histopathologie métastase 7. Histopathologie primitive
 8. Autopsie/Histologie 9. Inconnue
14. Localisation : / / / /
15. Morphologie :
 / / / / / / /
16. Stade de diagnostic : 1. Local 2. Locorégional 3. Métastase 9. Indéterminé
17. Suivi : 1. Vivant 2. Décédé 3. Etranger 9. Inconnu
18. Date de suivi :
- Nom du Médecin résident :



ملخص

تنقسم الآفات الجلدية الخبيثة إلى مجموعتين رئيسيتين، سرطان الخلايا الصبغية الخبيث والسرطانة وبالأخص سرطان الخلايا القاعدية والخلايا الحرشفية. رغم أن معظم التهابات فيروس الورم الحليمي البشري حميدة، أنواع معينة من الالتهابات بهذا الورم قادرة على أن تسبب سرطان الجلد مثل السرطانة غالباً سرطان الخلايا القاعدية. الهدف من هذا العمل يتمثل من جهة في إجراء تقييم الوبائية لسرطان الجلد في مستشفى جامعة تلمسان، ومن ناحية أخرى، في الكشف عن الحمض النووي الصبغي لفيروس الورم الحليمي البشري من خزعات سرطان الجلد في عدد من المرضى للسكان الجزائريين. 499 حالة سرطان الجلد جمعت في قسم علم الأوبئة لمستشفى جامعة تلمسان في السنوات الخمس الماضية، تم التوصل إلى الارتفاع المحدود في عام 2014 مع 27,1%. المرضى الأكثر تضرراً ينتمون إلى الفئة العمرية بين 60 و70 سنة بمتوسط عمر 64 سنة، والرجال هم الأكثر تضرراً من سرطان الجلد مع نسبة الجنس 1,14. حالتين (5%) من 36 عينة في مجموع السرطان التي تم تحليلها كانت إيجابية لفيروس الورم الحليمي البشري على مستوى الجلد. الظروف الجغرافية والمناخية للمنطقة تلمسان، التي تتميز بأشعة الشمس المهمة والممتدة لفترة طويلة من السنة، هي بلا شك المسؤولة عن هذه الأورام. فيروس الورم الحليمي البشري يمكن أن يكون مجرد عامل مشترك، يرتبط مع الأشعة فوق البنفسجية أو مع نقص المناعة، يؤدي إلى حدوث أمراض الجلد الحادة مثل تلك التي لوحظت في خلل تنسج البشرة الثولولي قد يؤدي إلى الإصابة بسرطان الجلد. **الكلمات المفتاحية:** فيروس الورم الحليمي البشري - سرطان الجلد - خزعة - PCR.

Résumé

Les lésions malignes de la peau se divisent en deux sous-groupes principaux, les mélanomes malins et les carcinomes et en particulier les carcinomes basocellulaires et les spinocellulaires. Bien que la plupart des infections à HPV soient bénignes, des types spécifiques d'infections par le HPV ont été estimés causer des cancers de la peau comme les carcinomes le plus souvent les carcinomes basocellulaires.

L'objectif de ce travail se présente d'une part dans la réalisation d'une évaluation du profil épidémiologique des cancers cutanés au niveau de CHU de Tlemcen, et d'autre part, dans la détection de l'ADN d'HPV à partir des biopsies de cancers cutanés dans une population de patients algériens.

499 cas de cancers cutané ont été colligés au niveau du service d'Épidémiologie - CHU de Tlemcen sur les cinq dernières années, le pic majeur a été obtenu au cours de l'année 2014 avec 27,1%. Les patients les plus touchés appartenant à la tranche d'âge de 60 à 70 ans avec un âge moyen de 64 ans, et les hommes sont les plus atteints par le cancer cutané avec un sex-ratio de 1,14.

Deux cas (5%) sur 36 prélèvements au total de cancers analysés étaient positifs en HPV au niveau de la peau.

Les conditions géographiques et météorologiques de la région de Tlemcen, caractérisées par un ensoleillement important et prolongé pendant une longue période de l'année sont sans aucun doute responsables de ces tumeurs. Les HPV pourraient n'être que des co-facteurs qui, associés aux ultraviolets ou à un déficit immunitaire, favoriseraient la survenue de dermatoses sévères telles que celles observées dans l'épidermodysplasie verruciforme pouvant conduire au développement d'un cancer cutané.

Les mots clés : HPV – Cancers cutanés – Biopsie – PCR.

Summary

The malignant lesions of the skin are divided into two main subgroups, malignant melanomas and carcinomas and in particular basal cell carcinomas and squamous cell carcinomas. Although most HPV infections are benign, specific types of HPV infections have been estimated to cause skin cancers such as carcinomas most commonly basal cell carcinomas.

The objective of this work is on the one hand in the realization of an evaluation of the epidemiological profile of skin cancers in Tlemcen hospital, and on the other hand, in the detection of HPV DNA from the biopsies of cutaneous cancers in a population of Algerian patients.

499 cases of skin cancer have been collected at the epidemiology department - Tlemcen hospital for the last five years, the major peak was obtained during the year 2014 with 27.1%. The most affected patients belonging to the age group of 60 to 70 years with an average age of 64 years, and men are the most affected by skin cancer with a sex ratio of 1.14.

Two cases (5%) out of 36 total samples of cancer analyzed were positive in HPV in the skin.

The geographical and meteorological conditions of the Tlemcen region, characterized by extensive and prolonged sunlight for a long time of year are undoubtedly responsible for these tumors. HPV could be only co-factors, associated with ultraviolet or immune deficiency, would favor the occurrence of severe dermatoses such as those observed in epidermodysplasia verruciformis that may lead to the development of skin cancer.

Keywords: HPV - Cutaneous cancers - Biopsy - PCR.