

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement
« LAMAABE »

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat en Sciences
Option : Biologie moléculaire et cellulaire et maîtrise du développement microbien

Thème

Caractéristiques de l'infection à Papillomavirus Humain chez des femmes infectées et non infectées par le Virus de l'Immunodéficience Humaine dans l'Ouest Algérien

Présentée par :
MASDOUA Nabila

JURY:

Pr KHELIL Nihel _____	UABB Tlemcen _____	Président
Pr TOU Abd-Enacer _____	UDL Sidi Belabbès _____	Examineur
Dr KHENCHOUCHE Abdelhalim _____	UFA Sétif _____	Examineur
Dr REBIAHI Sidahmed _____	UABB Tlemcen _____	Examineur
Pr HASSAINE Hafida _____	UABB Tlemcen _____	Directeur de thèse
Pr SEGONY Michel _____	UM1 Montpellier _____	Co-Directeur de thèse

Année Universitaire
2019-2020

DEDICACES

Avec amour et affection, je dédie ce travail

A mon cher pays.

A mes très chers parents qui ont su me porter et supporter. Leur présence à mes côtés, leur amour, leur patience, leur sacrifice, et leurs encouragements ont toujours été ma source de force, c'est grâce à eux et pour eux que j'ai accompli ce modeste travail. Merci infiniment... Merci maman de m'avoir suivie pas à pas durant la rédaction de cet ouvrage et merci pour toutes les corrections.

A mon très cher époux Fewzi, mon compagnon et mon accompagnateur dans ce parcours, je lui rends grâce pour l'effort et le goût qu'il a suscité en moi, pour son aide sans limite, et surtout pour sa patience. Quoique je dise ou que je fasse, je ne saurais le remercier comme il se doit.

A mes adorables filles Myral et Lyne. Que cet ouvrage leur soit une fierté pour l'avenir.

A ma grand-mère Khalouja, ma source de tendresse.

A mes frères : Walid, Adel, Yacine, Rassim et sa femme Asma. Merci pour votre patience et pour votre soutien sans faille.

A mes neveux : Amany, Nizar et Chiraz.

A ma très chère belle mère Fatiha. Que Dieu lui offre la pleine santé et le bonheur de voir ses enfants et ses petits-enfants réussir.

A mes cousins et beaux frères : Zinou, Nabila, Nounou, Riad et Houcine, je n'oublie pas leurs époux et épouses. A tous leurs enfants.

A la mémoire de mon très cher cousin et beau frère Amirouche que nous venons de perdre. Que Dieu lui accorde sa clémence et sa miséricorde et qu'il bénisse sa femme et ses enfants.

A toute la famille MASDOUA.

A toute la famille AIT SALEM.

A mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines, je ne citerai pas les noms, de peur d'en oublier certains.

A tous mes amis, plus particulièrement Fatima et Athénais. Merci pour votre soutien indéfectible.

A tous ceux qui m'ont soutenu, qu'ils trouvent ici l'expression de mon Amour et ma profonde Gratitude.

REMERCIEMENTS

Je rends grâce, avant tout, à Dieu tout puissant, pour la volonté, la patience et le courage, qu'il m'a offerts, pour accomplir ce modeste travail.

Je remercie cordialement tous ceux qui m'ont soutenue dans l'élaboration de cette thèse et leur voue toute ma reconnaissance :

Je voudrais tout d'abord remercier grandement, ma directrice de thèse, M^{me} **Hafida HASSAINE**, Professeur à la faculté SNV/STU, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen et Directrice du laboratoire de recherche LAMAABE, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider cette thèse. Qu'elle soit aussi remerciée pour sa patience, sa disponibilité permanente, ses conseils précieux et pour les nombreux encouragements qu'elle m'a prodigués. Merci Madame, de m'avoir fait confiance et de m'avoir toujours poussée devant.

Je remercie vivement Monsieur **Michel SEGONDY**, mon co-directeur de thèse, MCU-PH à l'Université de Montpellier1, France, d'avoir accepté d'être co-directeur, et de m'avoir donné la chance d'effectuer la pratique dans les meilleures conditions au sein de l'Unité de l'INSERM 1058-Université de Montpellier et au sein du laboratoire de Virologie à l'Hôpital Saint-Eloi-Montpellier. Je vous exprime ma gratitude d'avoir toujours orienté ma recherche, d'avoir corrigé l'article et la thèse et d'avoir répondu à toutes mes questions.

Je remercie particulièrement Madame **Lamia BOUBLENZA**, Docteur à la faculté SNV/STU, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen d'avoir cru en moi et de m'avoir mise sur son axe de recherche. Je vous remercie Madame, pour tout le temps que vous avez pris pour la correction de cette thèse. De vous, j'ai toujours reçu non seulement les encouragements dont j'avais tant besoin, mais aussi de précieux conseils qui m'ont aidée à aller de l'avant. C'est avec vous que j'ai compris ce que rigueur et précision voulaient dire.

Je remercie les membres du jury, pour l'honneur qu'ils m'ont fait, en acceptant d'évaluer le travail de ma thèse.

Mes remerciements s'adressent particulièrement à Madame **Nihel KHELIL**, Professeur à la faculté SNV/STU, Abou Bekr Blekaid-Tlemcen, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de cette thèse.

Je remercie Monsieur **Abd-Enacer TOU**, Professeur à l'Université Djillali Liabes -sidi Belabbès pour m'avoir offert le privilège d'examiner ce travail.

Je remercie également Monsieur **Abdelhalim KHENCHOUCHE**, Docteur à l'Université Ferhat Abbas Sétif pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de l'examiner.

Je remercie Monsieur **Sidahmed REBIAHI**, Docteur à la faculté SNV/STU, Abou Bekr Blekaid-Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail, je le remercie aussi d'avoir toujours cru en moi ; c'est avec lui que j'ai appris à aimer la microbiologie.

J'exprime ma reconnaissance à Monsieur **Philippe VAN DE PERRE**, Directeur de l'Unité INSERM 1058, Université de Montpellier d'avoir accepté de m'accueillir dans son laboratoire ainsi qu'à Monsieur **Jean NGOU** qui m'a fait part de son expérience pratique et m'a appris à effectuer le génotypage.

Je remercie tout particulièrement l'équipe du laboratoire Virus et Cancer de l'institut Pasteur d'Alger : en tête Monsieur le Professeur **BOUGUERMOUH**, grâce à qui j'ai pu accéder à la pratique, ainsi que Mme **Nabila SAOUKI** et Mme **Fatma** qui m'ont fait part de leur expérience pratique et qui ont toujours répondu avec calme à mes appels et aux questions dont je les accablais. Je remercie aussi Mme **Soumia BENMAHOUF** pour son aide à récolter les données épidémiologiques concernant le VIH en Algérie.

Mes remerciements les plus vifs à tous les Médecins publics et privés pour leurs contributions à la collecte des données et des échantillons, plus particulièrement à Mme **Fatiha RAZIK**, actuellement Chef de service des Maladies infectieuses et tropicales à l'hôpital El-Hadi Flici à Alger ainsi que les Anatomopathologistes privés de la Wilaya de Tlemcen Dr **SARI HASSOUN**, Dr **BABA AHMED** et le gynécologue Dr **BENAHBIB**.

Je remercie Mme **Naffissa CHABNI** pour son accueil dans le service d'Epidémiologie au CHU Tlemcen, pour sa disponibilité, son sérieux et surtout pour ses qualités humaines.

Je remercie aussi Monsieur **Derbali REGAGBA**, pour avoir contribué au traitement statistique des données.

Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire LAMAABE pour leurs encouragements et leur soutien sans faille,

A la fin, j'exprime ma gratitude à toute personne ayant contribué ne serait-ce qu'avec un geste, à l'élaboration de cet ouvrage

Merci à tous et pour tout

ملخص

إن سرطان عنق الرحم، الذي يشكل السبب الثالث لوفيات بالسرطان بين النساء في الجزائر، ينجم ضروريا عن الإصابة بفيروس الورم الحليمي البشري (HPV).

الهدف الأولي من هذه الأطروحة هو دراسة خصائص عدوى فيروس الـ HPV عند النساء المعرضات لخطر الإصابة بسرطان عنق الرحم (النساء المصابات بفيروس نقص المناعة البشرية و / أو أمراض النساء) في غرب الجزائر، ذلك باستخدام اختبار التتميط الجيني INNO-LiPA HPV. من ناحية أخرى، تم إجراء تقييم لاستعمال اختبار Amplicor HPV في الفحص المبكر لسرطان عنق الرحم و كذلك مقارنة بين اختبارات HPV الثلاثة : INNO-LiPA ، Cobas ، و Amplicor.

أظهر اختبار الـ INNO-LiPA لدى 96 عينة من عنق الرحم التي من بينها 32 عينة لنساء مصابات بفيروس نقص المناعة البشرية والتي تشكل تشوهات الخلوية 18.9% من العينات ، أن الـ HPV متواجد في 60.0% من العينات و الـ HPV ذو الخطورة الكبيرة (HR-HPV) في 51.6% . كان HPV16 و HPV18 أكثر الأنواع انتشارًا في هذه الدراسة. كانت نسبة فيروس HPV أعلى بكثير لدى المريضات المصابات بفيروس نقص المناعة مقارنة بباقي المريضات (OR = 2,7 ,IC à 95% : 1,1 - 7,1).

قدرت نسبة الـ HR-HPV التي كشف عنها اختبار Amplicor لدى 76 مريضة من ولاية تلمسان بـ 17.1%. بفضل دمج اختبار HPV في التشخيص المبكر لسرطان عنق الرحم، وُجه إلى التنظير المهلي فقط التشوهات الخلوية المرفوقة بنتائج إيجابية لـ HPV ، مُد وقت المراقبة لمدة 3 أو 5 سنوات بالنسبة إلى العينات الطبيعية السلبية لـ HPV ، مُد وقت المراقبة لمدة 3 أو 5 سنوات بالنسبة إلى العينات الطبيعية و تم إظهار وجود إفراط في التشخيص عن طريق كل من الدراسة الخلوية و التنظير المهلي .

أظهرت المقارنة بين الاختبارات الثلاثة : INNO-LiPA ، Cobas ، و Amplicor أن العلاقة المباشرة كانت بعيدة عن الكمال. كان الاتفاق بين INNO-LiPA و Cobas (K = 0.116 , p = 0.001)، أضعف من الذي بين Cobas و Amplicor (K=0.667 ; p=0.250) وبين INNO-LiPA و Amplicor (K = 0. ؛ p = 0.125) (556). وقد وجد أيضًا أن INNO-LiPA كان أكثر حساسية من Cobas ولكنه أقل دقة.

أظهرت هذه الدراسة ارتفاع معدل الإصابة بعدوى فيروس الورم الحليمي البشري والتشوهات الخلوية في عنق الرحم بين النساء في غرب الجزائر خاصة المصابات بفيروس نقص المناعة البشرية، مما يستدعي اتخاذ تدابير وقائية أكثر صرامة. سيادة HPV 16 و HPV 18 ، وهما الأنماط الجينية المستهدفة بالتطعيم ، وفضل مساهمة اختبار الـ HPV في تشخيص التشوهات الخلوية ، لدى المرضى الذين شملتهم الدراسة ، تشير إلى أن التطعيم ضد HPV وإدخال اختبار الـ HPV في الفحص المبكر لسرطان عنق الرحم سيكون له تأثير حقيقي من حيث الصحة العامة. بالإضافة إلى ذلك ، سيكون مثيرا للاهتمام معرفة خصائص اختبارات الـ HPV لأن بعض الاختبارات تهدف إلى تحسين التشخيص المبكر بينما اختبارات أخرى، بحساسيتها العالية، تُعتبر أكثر ملائمة للاستخدام في البحث العلمي والدراسات الوبائية الفيروسية.

الكلمات الأساسية: فيروس الورم الحليمي البشري ، سرطان عنق الرحم ، فيروس نقص المناعة البشرية ، اختبار فيروس الورم الحليمي البشري ، علم الخلايا

Résumé

Le cancer du col de l'utérus, qui constitue la troisième cause de mortalité par cancer chez la femme en Algérie, est nécessairement causé par le papillomavirus humain (HPV).

L'objectif préliminaire de ce travail de thèse est de caractériser en utilisant le test INNO-LiPA HPV Genotyping, l'infection à HPV chez les femmes à risque de développer une lésion cervicale; soit des femmes infectées par le Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH) et/ou présentant une pathologie gynécologiques, dans l'Ouest algérien. D'autres parts, une évaluation de l'apport clinique du test Amplicor HPV HR dans le dépistage du cancer du col ainsi qu'une comparaison des trois tests HPV: INNO-LiPA, Cobas et Amplicor ont été réalisés.

L'analyse par INNO-LiPA de 96 prélèvements cervicaux, dont 32 appartenant à des femmes séropositives au VIH et dont les anomalies cytologiques constituaient 18,9% des prélèvements, a révélé que l'HPV était retrouvé dans 60,0% des prélèvements et l'HPV à haut risque (HR -HPV) dans 51,6%. L'HPV16 et l'HPV18 ont constitué les types les plus prévalent. Le taux des HPV était significativement plus élevé chez les patientes séropositives au VIH (OR=2,7, IC à 95% : 1,1 - 7,1).

L'introduction du test Amplicor HR HPV dans le dépistage de 76 patientes de la Wilaya de Tlemcen, a démontré que l'HR-HPV était présent dans 17,1% des échantillons. Ce test a permis de n'orienter vers la colposcopie que les anomalies cytologiques positives pour l'HPV, d'allonger le contrôle à 3 ou 5 ans pour les Frottis normaux négatifs à l'HPV, d'indiquer l'existence d'un surdiagnostic par cytologie et de limiter les surdiagnostics liés à la colposcopie.

La comparaison des trois tests INNO-LiPA, Cobas et Amplicor a démontré que la corrélation directe était loin d'être parfaite. La mesure d'accord entre INNO-LiPA et Cobas ($K=0,116$; $p=0,001$) était plus basse que celles entre INNO-LiPA et Amplicor ($K=0,556$; $p=0,125$) et entre Cobas et Amplicor ($K=0,667$; $p=0,250$). Il a été constaté aussi que l'INNO-LiPA était plus sensible que Cobas mais moins spécifique.

Cette étude montre un taux élevé des infections à HPV et des anomalies cytologiques du col utérin chez les femmes de l'Ouest Algérien consultant en gynécologie ou séropositives pour le VIH, ce qui fait appel à des mesures de prévention plus strictes. La prédominance des HPV 16 et 18, les deux génotypes ciblés par vaccination, et l'apport du test HPV dans le diagnostic et le suivi des anomalies, chez les patientes étudiées, suggèrent que la vaccination anti-HPV et l'introduction du test HPV dans le dépistage auraient un impact réel en termes de santé publique. Par ailleurs, il serait intéressant de connaître les propriétés des tests HPV car certains visent à optimiser les performances cliniques dans le dépistage alors que d'autres, avec leur grande sensibilité, sont plus appropriés à être utilisés dans la recherche scientifique et les enquêtes épidémiologiques.

Mot clé : HPV, cancer du col, VIH, test HPV, cytologie cervicale

Summary

Cervical cancer, the third leading cause of cancer death in women in Algeria, is necessarily caused by Human Papillomavirus (HPV).

The purpose of this thesis is to characterize HPV infection in women at risk of developing cervical lesion: women infected by the Human Immunodeficiency Virus (HIV) and / or having a gynecological pathology, in western Algeria; this by using the INNO-LiPA HPV Genotyping test. On the other hand, an evaluation of the clinical contribution of the Amplicor HPV test in cervical cancer screening as well as a comparison of the three HPV tests: INNO-LiPA, Cobas and Amplicor were performed.

The INNO-LiPA analysis of 96 cervical specimens, including 32 belonging to HIV infected women and whose cytological abnormalities constituted 18.9% of the samples, revealed that HPV was found in 60.0% of the samples and that high risk HPV (HR-HPV) in 51.6%. HPV16 and HPV18 were the most prevalent types. HPV was significantly higher in HIV-positive patients (OR = 2.7, 95% CI: 1.1-7.1).

The introduction of the Amplicor HPV test in screening of 76 patients from Tlemcen, demonstrated that HR-HPV was present in 17.1% of the samples. The use of the HPV test allowed to guide to colposcopy only cytological abnormalities with positive HPV, to extend the control to 3 or 5 years for normal smear with negative HPV, to indicate the existence of a over-diagnosis by cytology and to limit overdiagnosis related to colposcopy.

The comparison of the three INNO-LiPA, Cobas and Amplicor tests showed that the direct correlation was far from perfect. The agreement between INNO-LiPA and Cobas ($\kappa = 0.116$, $p = 0.001$) was lower than that between INNO-LiPA and Amplicor ($\kappa = 0.556$, $p = 0.125$) and between Cobas and Amplicor ($\kappa = 0.667$; $p = 0.250$). It was also found that INNO-LiPA was more sensitive than Cobas but less specific.

This study shows a high rate of HPV infections and cervical cytology abnormalities among women in western Algeria consulting gynecology or women infected by HIV, which calls for stricter prevention measures. The predominance of HPV 16 and 18, the two genotypes targeted by vaccination, and advantage of HPV test contribution in the diagnosis of abnormalities, in this study, suggest that HPV vaccination and introduction of the HPV test in screening would have a real impact in terms of public health. Moreover, it would be interesting to know the properties of HPV tests because some aim to optimize the clinical performance in the screening while others, with their high sensitivity, are more suitable for use in scientific research and epidemiological survey.

Keyword: HPV, cervical cancer, HIV, HPV test, cervical cytology

Liste des Abréviations et des Acronymes

ADN : acide désoxyribonucléique	Ig : Immunoglobulines
ASCCP : American Society for Colposcopy and Cervical Pathology	L : Late
ARN : acide ribonucléique	INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
ASCUS : <i>Atypical squamous cells undetermined significance</i>	IPA : Institut Pasteur d'Algérie
ASCH : <i>Atypical Squamous Cells cannot exclude HSIL</i>	LCR : <i>Long Control Region</i>
BPV : <i>Bovine papillomavirus</i>	LNR : Laboratoire National de Référence
CDC : <i>Centre for Disease Control</i>	LR-HPV <i>low risk Human Papillomavirus</i>
CDR : Centres De Référence	LSIL : <i>Low grade squamous intraepithelial lesion</i>
CD4 : cluster de différenciation 4	min : minute
CD8 : cluster de différenciation 8	ml : millilitre
CE : conformité européenne	MSD : Merck Sharp and Dohme
CHU : Centre Hospitalier et Universitaire	nm : nanomètre
CIN : <i>Cervical intraepithelial neoplasia</i>	OMS : Organisation Mondiale de Santé
cm : centimètre	OR : odds ratio
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité	ORF : open reading frame
CRPV : <i>cottontail rabbit papillomavirus</i>	ori : site d'origine de la réplication virale
DGSS : Direction Générale des Structures de Santé	PCR : <i>polymerase chain reaction</i>
DSP : Direction de la Santé et de la Population	PCR TR : PCR en temps réel
E : <i>Early</i>	Pg : picogramme
FISH : <i>fluorescent in situ hybridization</i>	pHR-HPV : <i>probable high-risk HPV</i>
FCU : frottis cervico-utérin	pRb : protéine du rétinoblastome
GSK : Glaxo Smith Kline	PV : <i>Papillomavirus</i>
gp : glycoprotéine	p53 : protéine 53
HC2 : Hybrid capture 2	qPCR : PCR quantitative
HPV : <i>Human Papillomavirus</i>	SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise
HR-HPV : <i>Hight risk Human Papillomavirus</i>	US FDA : <i>United State Food and Drog Administration</i>
HSIL : <i>High grade squamous intraepithelial lesion</i>	UV : ultraviolet
IARC : <i>International Agency for Research on Cancer</i>	VLP : <i>virus-like particule</i>
	VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Liste des Figures

Partie I : Synthèse Bibliographique

Figure I.1 : structure des papillomavirus	7
Figure I.2 : Organisation génétique de l'HPV 16.....	8
Figure I.3 : cycle viral du Papillomavirus Humain	10
Figure I.4 : Principales étapes de la carcinogenèse associée à E7 et E6 des HR-HPV.....	13
Figure I.5 : Structure anatomique et histologique du col de l'utérus.....	14
Figure I.6 : Evolution des lésions précancéreuses vers un cancer du col utérin invasif	17
Figure I.7 : Réponse immunitaire dirigé contre l'HPV.....	28
Figure I.8 : taux d'incidence et de mortalité par le cancer du col de l'utérus dans différentes région du monde.....	42
Figure I.9 : Incidence et mortalité par le cancer du col de l'utérus dans les pays de l'Afrique du nord.....	43

Partie 2 : Partie Expérimentale

Figure II.1: Distribution des différents génotypes d'HPV chez des patientes séropositives et séronégatives au VIH dans l'ouest algérien	52
Figure II.2: Nombre de type d'HPV par patiente chez des femmes séropositives et séronégatives au VIH dans l'ouest algérien	53
Figure II.3: taux de l'HR HPV et des lésions cytologiques en fonction des classes d'âge	54
Figure II.4: Répartition des résultats du test HPV en fonction des examens effectués.....	63

Liste des Tableaux

Partie I : Synthèse Bibliographique

Tableau I.1 : Classification phylogénique des HPV.....	6
Tableau I.2 : fonction des protéines viral des HPV	8
Tableau I.3 : Correspondance entre les différentes classifications des lésions épidermoïdes du col utérin.....	16
Tableau I.4 : procédure des méthodes destructrice et des méthodes par exérèse pour le traitement des lésions précancéreuses.....	25
Tableau I.5 : différents tests HPV et leur principales caractéristiques	40
Tableau 1.6 : Récapitulatif des études portant sur l'HPV et son association aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus.....	45

Partie 2 : Partie Expérimentale

Tableau II.1 : caractéristiques sociodémographiques et habitudes comportementales de la population étudiée.....	51
Tableau II.2 : association entre le taux de l'HPV et le résultat cytologique parmi toutes les femmes étudiées	53
Tableau II.3 : taux de l'HPV selon le potentiel oncogénique parmi les patientes séropositives et non séropositives au VIH	55
Tableau II.4 : taux de l'HR-HPV obtenu selon la lecture cytologique	64
Tableau II.5 : Taux de l'HPV parmi les patientes examinées par Amplicor après examen cytologique et examen colposcopique	64
Tableau II.6 : Résumé du principe et des caractéristiques de chacune des trois techniques étudiées	73
Tableau II.7 : taux d'HPV obtenu selon les génotypes détectables par chaque technique utilisée	75
Tableau II.8 : comparaison de InnoLipa, Cobas et Amplicor en fonction de l'HPV à haut risque détecté.....	76
Tableau II.9 : Récapitulatif des désaccords obtenus dans la comparaison de chaque paire des trois techniques	77
Tableau II.10 : résultat de comparaison entre INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique	77
Tableau II.11 : taux d'HPV obtenu selon les génotypes détectables par chaque technique utilisée et selon les résultats de la lecture cytologique	78

Liste des Tableaux

Tableau II.12: comparaison entre INNO-LiPA, Cobas et Amplicor en fonction de la cytologie.....	79
Tableau II.13 : valeurs de sensibilité et de spécificité obtenu pour INNO-LiPA et Cobas parmi les 94 prélèvements analysés	79

Table des Matières

Liste des abréviations et des acronymes	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux	iii
Table des matières.....	v
Introduction Générale.....	1
Partie I : Synthèse Bibliographique	
Chapitre 1 : Les Papillomavirus Humains.....	4
1. Présentation des Papillomavirus	4
2. Tropisme et transmission des HPV.....	4
3. Classification.....	4
3.1. Classification établie sur la séquence génomique	5
3.2. Classification établie sur le tropisme.....	5
3.3. Classification établie sur le pouvoir oncogénique	5
4. Structure et organisation génomique.....	7
5. Cycle viral.....	8
5.1. Attachement, pénétration et décapsidation.....	8
5.2. Phase d'établissement	9
5.3. Maintenance du génome	9
5.4. Prolifération cellulaire.....	9
5.5. Encapsidation et libération des virions.....	10
6. Types d'infections à HPV.....	11
6.1. Infection productive	11
6.2. Infection latente	11
6.3. Infection aboutissant à la carcinogenèse	11
Chapitre 2 : Le Cancer du col utérin	14
1. Le col de l'utérus	14
2. Présentation du cancer du col de l'utérus	15
3. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus	15
4. Les facteurs de risque	17
4.1. Les facteurs liés au virus.....	17
4.2. Les facteurs propres à l'individu.....	18
5. Prévention du cancer du col utérin.....	19
5.1. Vaccination (prévention primaire).....	20
5.2. Dépistage (prévention secondaire).....	21
5.3. Traitement des lésions dépistées (prévention tertiaire).....	24
6. Traitement du cancer du col utérin	25
6.1. Chirurgie	25
6.2. Radiothérapie	26
6.3. Chimiothérapie	26
Chapitre 3 : HPV et cancer du col utérin chez les femmes infectées par le VIH	27
1. HPV et Système immunitaire.....	27
1.1. Réponse immunitaire à une infection naturelle par HPV.....	27
1.2. Echappement immunitaire des HPV	28
2. Le VIH et son effet du sur le système immunitaire	30
2.1. Généralité	30
2.2. Mode d'action du VIH et évolution de la maladie.....	30
3. Infection à papillomavirus et cancer du col utérin chez les femmes séropositives pour le VIH	31

Table des Matières

3.1. Caractéristiques de l'infection à HPV chez les femmes séropositives à l'HIV.....	31
3.2. Développement du cancer du col de l'utérus chez les femmes séropositives à l'HIV.....	31
Chapitre 4 : Techniques de détection et d'identification de l'HPV.....	33
1. Utilisation de la biologie moléculaire pour la détection de l'HPV	33
2. Diversité des tests HPV actuels	33
2.1. Diversité des tests HPV en fonction de la technologie utilisée.....	34
2.2. Diversité des tests HPV en fonction du spectre de détection des HPV.....	37
2.3. Diversité des tests HPV en fonction de la quantification virale	38
2.4. Diversité des tests HPV en fonction du biomarqueur et de la cible moléculaire.....	38
2.5. Diversité des tests HPV en fonction de la méthode de révélation	39
3. Application du test HPV.....	39
Chapitre 5 : Situation et Epidémiologie.....	41
1. Situation et données épidémiologiques du cancer du col utérin	41
1.1. Situation dans le monde.....	41
1.2. Situation en Algérie	42
2. Prévalence de l'HPV dans le cancer du col utérin	43
2.1. Dans le monde	43
2.2. En Algérie	43
3. Données épidémiologiques du VIH et de son association avec le cancer du col de l'utérus.....	46
3.1. Données épidémiologiques de l'infection à VIH.....	46
3.2. Association entre le VIH et le cancer du col utérin dans le monde.....	47
Partie 2 : Partie Expérimentale	
Chapitre 1 : Caractéristiques de l'infection à HPV et des lésions cervicales chez des femmes infectées et non par le VIH-1 dans l'Ouest algérien.....	48
1. Objectif de l'étude	48
2. Matériel et Méthodes.....	48
2.1. Echantillonnage.....	48
2.2. Critères d'exclusions et d'inclusion	49
2.3. Etude cytologique.....	49
2.4. Détection et génotypage de l'HPV.....	49
2.5. Analyse statistique	50
3. Résultat	50
3.1 Caractéristique de la population étudiée	50
3.2. Taux des anomalies cytologiques parmi toute la population étudiée	52
3.3. Taux de l'infection à HPV parmi toute la population étudiée	52
3.4. Association entre l'infection à HPV et le résultat cytologique parmi la population étudiée	53
3.5. Association des résultats de l'HPV et de la cytologie, à l'âge et aux autres caractéristiques des patientes	53
3.6. Caractéristiques de l'infection HPV et des anomalies cytologiques selon la séropositivité des femmes au VIH	54
4. Discussion.....	55
5. Conclusion	59
Chapitre 2 : Apport du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin chez des femmes algériennes.....	60

Table des Matières

1. Objectifs	60
2. Méthodologie	60
2.1. Echantillonnage	60
2.2. Critères d'exclusions et d'inclusion	61
2.3. Lecture cytologique et histologique	61
2.4. Détection de l'HPV par le test Amplicor® HPV haut risque	61
2.5. Analyse statistique	62
3. Résultats.....	62
3.1. Description des résultats des examens morphologiques et du test HPV parmi la population étudiée	62
3.2. Répartition des résultats du test HPV en fonction des examens effectués	62
3.3. Résultat du test HPV parmi les femmes examinées pour une surveillance post thérapeutique	65
4. Discussion.....	65
5. Conclusion	68
Chapitre 3 : comparaison de trois techniques de détection des HPV : le test INNO LiPA HPV Genotyping®, le Test cobas 4800® HPV et le test Amplicor® HPV HR.....	70
1. contexte de l'étude	70
2. Objectifs	70
3. Méthodologie.....	71
3.1. Echantillonnage.....	71
3.2. Critères d'exclusion et d'inclusion	71
3.3. Description des techniques.....	72
3.4. Concept de l'étude	73
3.5. Etude statistique... ..	74
4. Résultats.....	75
4.1. Taux d'HR-HPV retrouvé parmi tous les échantillons analysés selon chacune des techniques	75
4.2. Taux retrouvé parmi les échantillons utilisés pour la comparaison des techniques	75
4.3. Comparaison de InnoLipa, Cobas et Amplicor pour la présence ou l'absence de l'HPV à haut risque	76
4.4. Comparaison des résultats de INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique	77
4.5. Association de la multiplicité de l'infection à HPV aux discordances obtenues entre les tests.....	78
4.6. Comparaison des techniques selon les résultats de la cytologie.....	78
4.7. Sensibilité et spécificité des techniques.....	79
5. Discussion.....	79
6. Conclusion.....	84
Conclusion générale.....	86
Références bibliographiques.....	89

Introduction Générale

Introduction générale

Les papillomavirus humains (HPV) sont des virus à tropisme épithélial ; ils sont responsables d'une grande variété de lésions cutanées et muqueuses. Ils sont largement répandus dans la population (**Bosh et al., 2013**). L'infection à HPV est l'une des trois infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes (avec les infections à *Chlamydia trachomatis* et à *Trichomonas vaginalis*) et la première infection sexuellement transmissible d'origine virale avant l'Herpes génital [(**Duport, 2008**) ; (**Monsonogo, 2007**)]. Les centres de contrôle et de prévention des maladies CDC (*Centre for Disease Control*) estime que plus que la moitié des individus sexuellement actifs contracterait l'HPV au moins une fois au cours de leur vie sexuelle. Cependant, cette infection est le plus souvent transitoire et disparaît sans causer de signe, ni de symptôme (**CDC, 2009**).

Parmi la centaine de génotypes caractérisés, une quinzaine, dits oncogènes ou à haut risque (HR-HPV) sont associés à des lésions précancéreuses et cancéreuses des muqueuses anogénitales (**Moljin et al., 2005**). L'infection persistante par ces HR-HPV est une cause nécessaire au développement du cancer du col de l'utérus (**Walboomers et al., 1999**), un HR-HPV pouvant être retrouvé dans plus de 99% des cancers du col (**ZurHausen, 2009**). Ce cancer est un véritable problème de santé publique, car il constitue par ordre de fréquence le quatrième cancer de la femme au niveau mondial avec environ 570 000 nouveaux cas en 2018 et plus de 311 000 décès estimés par année (**Ferlay et al., 2019**). Environ 85% des cas surviennent dans les pays les moins développés, où ce cancer constitue 21,3% des cancers touchant les femmes, alors que dans les pays développés, cette proportion n'est que de 0,96% (**Bray et al., 2018**). En Algérie, le cancer du col utérin est l'une des plus graves pathologies chez les femmes algériennes ; il constitue la troisième cause de mortalité parmi les cancers féminins avec un taux de mortalité de 5,5 pour 100 000 femmes [(**DGSS, 2016**) ; (**Bray et al., 2018**)].

L'incidence des infections à HPV et surtout des HR-HPV s'élève notablement chez les femmes infectées par le Virus de l'Immunodéficience Humain (VIH). Le cancer du col est le cancer le plus fréquent chez ces femmes (**Massad et al., 2004**). Il est d'évolution plus rapide et a été inclus, en 1993, par les CDCs des Etats-Unis, parmi les critères définissant le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) (**CDC, 1993**).

Précédé par des lésions précancéreuses qui peuvent mettre jusqu'à 10 ou 20 ans pour se développer en cancer invasif, le cancer du col utérin constitue un candidat idéal pour le dépistage. C'est grâce à un programme de dépistage organisé et bien planifié, avec une

couverture élevée que l'incidence de ce cancer a remarquablement diminué dans les pays développés. Ce dépistage, qui reposait en premier lieu sur la cytologie, a abordé une ère où en plus des lésions cytologiques, est recherché l'agent causal, c'est-à-dire l'HPV oncogène. Ce test a été envisagé comme un moyen pour optimiser le dépistage primaire.

En Algérie, les tests HPV ainsi que les vaccins ne sont pas encore disponibles, la prévention de ce cancer n'est basée que sur le dépistage cytologique.

Très peu d'études portant sur le cancer du col, la prévalence et la distribution des génotypes d'HPV en Algérie ont été réalisées et l'impact d'une possible co-infection par le VIH n'a pas été abordé.

C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail porté sur une population de femmes algériennes qui sont à risque de développer une lésion cervicale (soit des femmes séropositives au VIH et/ou présentant une pathologie gynécologique). Cette recherche a pour objectif d'étudier l'infection à HPV chez ces femmes, de déterminer les apports du test HPV et de se familiariser avec les différentes techniques de détection des HPV.

Ce manuscrit comporte deux parties :

➤ La première est une synthèse bibliographique portée sur : la présentation des papillomavirus humains et des méthodes utilisées pour les détecter, l'histoire naturelle du cancer du col utérin depuis la primo-infection par HPV jusqu'au stade invasif, le développement de l'infection HPV et du cancer du col chez les femmes séropositives au VIH et enfin la situation épidémiologique dans le monde et en Algérie.

➤ La deuxième partie, expérimentale, est divisée en trois chapitres :

Le chapitre 1 vise à déterminer les caractéristiques de l'infection à HPV en utilisant la technique INNO LiPA HPV Genotyping (qui permet la détection et le génotypage de 28 HPV) et à étudier le lien de cette infection avec les anomalies cytologiques et avec les facteurs de risque qui favorisent le développement du cancer du col utérin chez la population étudiée.

Le chapitre 2 a pour objectif de démontrer l'apport du test Amplicor HPV (qui permet la détection des 13 HPV à haut risque), dans le dépistage du cancer du col utérin chez les femmes de l'ouest algérien.

Le chapitre 3 vise à comparer les résultats obtenus par les trois techniques HPV : le test INNO LiPA HPV Genotyping, qui est surtout utilisé pour des études épidémiologiques, le test Cobas 4800 HPV et le test Amplicor HPV qui sont des examens permettant la détection

d'HPV à haut risque, utilisés en routine dans le dépistage de lésions précancéreuses du col utérin.

➤ A la fin, une conclusion générale permettant de rassembler un ensemble de déductions suite à ce travail et de proposer des solutions et des perspectives.

Synthèse Bibliographique

- *Les Papillomavirus humains*
- *Le Cancer du col utérin*
- *HPV et cancer du col utérin chez les femmes infectées par le VIH*
- *Techniques de détection de l'HPV*
- *Situation et Epidémiologie*

Chapitre 1 : Les Papillomavirus Humains

1. Présentation des Papillomavirus

Les papillomavirus ont été mis en évidence par des techniques moléculaires au milieu des années 1970 (**Carcopino et al., 2011**). Ils ne sont pas regroupés au sein d'un ordre mais appartiennent à la famille des *papillomaviridae* (**Fauquet et al., 2005**). Ce sont des virus ubiquitaires, très anciens et très stables. Beaucoup d'espèces animales abritent des papillomavirus telles que les bovins, les caprins, les équins, les rongeurs, les oiseaux, les reptiles et l'Homme (**Prétet et al., 2007**).

Le terme papillomavirus est formé de la contraction du latin *papilloma* dérivé de *papula* et signifiant bouton et du suffixe grec *ome* qui désigne son caractère tumoral (**Fauquet et al., 2005**). La nomenclature consiste à rajouter, au suffixe PV (papillomavirus), l'abréviation désignant l'hôte infecté dérivée du terme anglais. Ainsi on parle d'HPV (human *papillomavirus*), de CRPV (*cottontail rabbit papillomavirus*), de BPV (*Bovine papillomavirus*)... (**de Villiers et al., 2004**). Il n'a pas été rapporté de contamination croisée entre espèces animales, ce qui suggère que chaque papillomavirus est spécifique de son hôte (**Prétet et al., 2007**). Ce sont les virus humains qui ont été étudiés de la manière la plus extensive ; une centaine de types d'HPV ont été actuellement identifiés par séquençage complet de leur génome. Cependant, sur la base des nombreuses séquences subgénomiques disponibles dans les bases de données, on estime que le nombre réel de types d'HPV est beaucoup plus élevé [(**Segondy, 2008**) ; (**Alain et al., 2010**)].

2. Tropisme et transmission des HPV

Ces virus possèdent un tropisme spécifique pour les kératinocytes, constituants majeurs des épithéliums pluristratifiés de la peau et des muqueuses. Cette spécificité cellulaire est due à des protéines spécifiques de ce type de cellules, comme la kératine. Ils peuvent se transmettre par tous types de contact direct avec les lésions de personnes atteintes, ou avec le virus subsistant dans l'environnement. La peau normale est résistante à l'entrée du virus, son franchissement conditionne la présence de lésion. Ainsi la voie sexuelle constitue leur voie de transmission préférentielle [(**Burchell et al., 2006**) ; (**Gavillon et al., 2010**)].

3. Classification des HPV

Les HPV peuvent être classés en fonction de leur séquence génomique, de leur tropisme ou de leur pouvoir oncogénique.

3.1. Classification établie sur la séquence génomique

Cette classification est établie par le séquençage du gène, hautement conservée, codant la protéine L1 (protéine majeure de la capside). Les différents niveaux d'organisations des papillomavirus (famille, genre, espèce, type, sous-type et variant) sont définis selon l'analyse phylogénique et le degré d'homologie entre les séquences des nucléotides de la protéine L1: Le genre est défini par une homologie de séquence inférieure à 60%, l'espèce par une homologie entre 60% et 70% et le type par une homologie entre 71 et 89%. Le sous type est quand à lui défini par une divergence comprise entre 2% et 10% et le variant par une divergence inférieure à 2% **(de Villier, 2004)**. Le tableau I.1 résume les différents niveaux d'organisation des HPV.

3.2. Classification établie sur le tropisme

Il est classique aussi de distinguer les HPV cutanés des HPV muqueux en fonction de leur site d'infection préférentiel. Parmi les HPV cutanés : les HPV 1, 2, ou 4 qui sont responsables des verrues plantaires et palmaires, et les HPV 5 et 8 qui sont majoritairement retrouvés chez des patients atteints d'une gènodermatose rare ou épidermodysplasie verruciforme **(Andrieu et al., 1997)**. Les HPV à tropisme muqueux se localisent essentiellement au niveau des muqueuses ano-génitales, certains d'entre eux peuvent être également retrouvés au niveau de la sphère oro-pharyngée. On distingue aussi ceux à tropisme dit mixte, c'est à dire à la fois cutané et muqueux **(Segondy, 2008)**.

3.3. Classification établie sur le pouvoir oncogénique

Il est à noter que cette répartition ne prend en considération que les HPV à tropisme muqueux, on distingue 2 groupes : Les HPV dits à bas risque (*low-risk HPV*, LR-HPV) tel que : HPV 6, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 et 89. Ils se retrouvent généralement dans les lésions ne présentant pas de risque d'évolution vers la malignité tels que les condylomes acuminés. Alors que les HPV dits à haut risque (*high-risk HPV*, HR-HPV), tel que : HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58,59, 68, 73 et 82, peuvent provoquer des lésions de haut grade présentant un risque d'évolution vers un cancer. Les HR-HPV sont détectés dans plus de 99% des tumeurs cervicales dont plus de 70% peuvent être imputées aux seuls types 16 et 18 au niveau mondial. Certains génotypes sont considérés comme étant à risque probable (*probable high-risk HPV*, pHR-HPV) tel que l'HPV 26, 53 et 66 **[(Munoz et al., 2003) ; (de Villier, 2004) ; (Segondy, 2008) ; (Maréchal et Quignon, 2013)]**.

Tableau I.1 : Classification phylogénique des HPV [(de Villier, 2004) ; (Segondy, 2008)]

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

4. Structure et organisation génomique

Les papillomavirus humains sont de petits virus de 45 à 55 nm de diamètre dont la capside est composée de 72 capsomères qui s'organisent en une symétrie icosaédrique, dépourvus d'enveloppe ce qui leur confère une très grande résistance aussi bien en milieu extérieur, qu'à la congélation et la dessiccation (Figure I.1) (Riethmuler *et al.*, 2002).

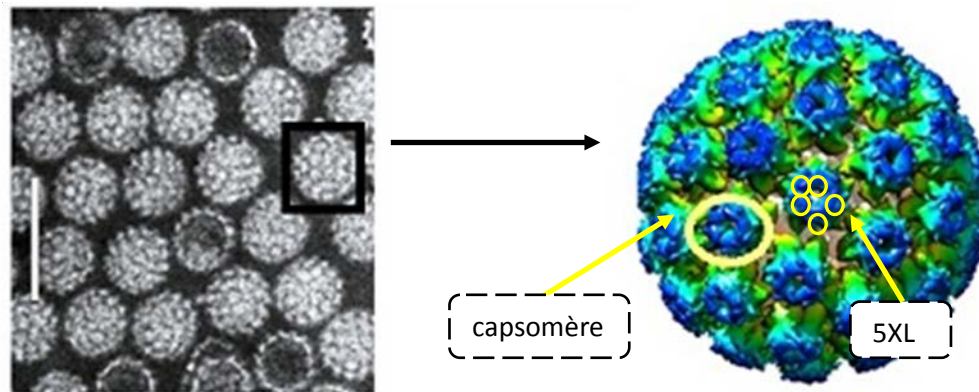


Figure I.1 : structure des papillomavirus

à droite : microscopie électronique HPV la barre correspond à 100 nm (Van Doorslaer *et al.*, 2018)
à gauche : structure atomique de la capside (Guan *et al.*, 2017)

Le génome de papillomavirus est constitué d'une molécule d'ADN double brin circulaire d'environ 8 000 paires de bases dont un seul brin est codant (Figure I.2). Ce brin est subdivisé en deux régions, l'une codante et l'autre non codante (Douvrier *et al.*, 2004). La région non codante (long control region, LCR) est une région régulatrice, elle comprend 400 à 1 000 nucléotides, elle contient un site ori (site d'origine de la réplication virale), les promoteurs des gènes précoces (P97 pour HPV16 et P105 pour HPV18), et des séquences de régulation de la réplication et de la transcription. La région codante est elle-même divisée en deux parties : une région précoce, E (early), codant pour les protéines E1, E2, E4, E5, E6 et E7 et une région tardive, L (late), codant pour les protéines structurales L1 et L2 de la capside [(Monsonogo, 2006) ; (Prétet *et al.*, 2007) ; (Mougin *et al.*, 2008)]. Les fonctions de ces protéines sont résumées dans le tableau I.2.

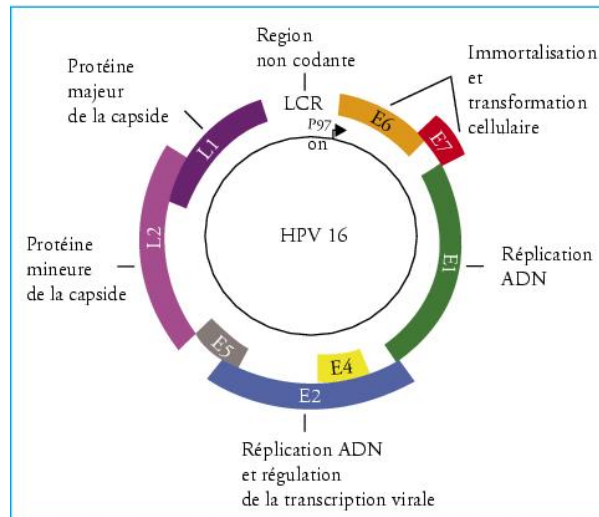


Figure I.2 : Organisation génétique de l'HPV 16 (NeufCoeur, 2009)

Tableau I.2 : fonction des protéines viral des HPV (Alain *et al.*, 2010)

Protéines virales	Fonction
protéine E1	- Réplication du génome viral, - Activité hélicase
protéine E2	- Réplication du génome viral, - Modulation de la transcription des gènes E6 et E7, - Site d'intégration du génome viral au génome cellulaire
protéine E4	- Maturation des virions
protéine E5	- Stimulation de la prolifération cellulaire
protéines E6 et E7	- Prolifération cellulaire - Immortalisation et de transformation cellulaire
protéine L1	protéine majeure de la capside
protéine L2	protéine mineure de capside assemblage du virus et la stabilisation de la capside

5. Cycle viral

Les papillomavirus humains sont parfaitement adaptés à leur cellules hôtes ; les cellules épithéliales cutanées ou muqueuses en différenciation. ils utilisent leur machinerie cellulaire pour leur propre fin (Munoz *et al.*, 2006). Le cycle viral décrit dans la figure II.3 se déroule suivant les étapes ci-dessous:

5.1. Attachement, pénétration et décapsidation

A la faveur d'une microlésion, les particules virales pénètrent l'épithélium pour atteindre les cellules souches de la couche basale ; siège de renouvellement permanent de l'épithélium. (Denis *et al.*, 2008). L'adsorption des virions sur les cellules se fait grâce à des

interactions entre la protéine L1 de la capsid virale et les récepteurs de la membrane basale bien identifiés pour certains HPV (comme l'intégrine alpha-6 pour HPV 6), moins bien identifiés pour d'autres (glycosamino-glycanes, syndecane-1, héparanes sulfates pour HPV 16) [(Bourgault-Villada, 2007) ; (Johnson *et al.*, 2009)]. L'entrée dans la cellule se fait par endocytose médiée par les vésicules à clathrine ou par les cavéoles [(Mougin *et al.*, 2008); (Laniosz *et al.*, 2009)]. A la différence d'autres virus, cette internalisation est longue, 4 heures au lieu de 5 à 15 min, ce qui laisse penser que des événements en amont sont nécessaires (Doorbar, 2005). Les virions se décapsident ensuite par rupture de ponts disulfure intracapsomériques, en raison de l'environnement réducteur intracellulaire. Ils sont transportés jusqu'au noyau grâce au réseau de microtubule. Une interaction entre la protéine L2 et l'actine b facilitera l'entrée de l'ADN viral dans le noyau [(Monsonogo, 2006) ; (Bergant *et al.*, 2012)].

5.2. Phase d'établissement

Elle consiste à la multiplication du génome viral dans les cellules souches sous le contrôle des protéines précoces E1 et E2. Toutes les autres protéines nécessaires à la réplication sont mises à disposition par la cellule hôte. Ceci permet d'obtenir de 50 à 100 copies d'ADN viral par cellule (Doorbar, 2005).

5.3. Maintenance du génome

Il est admis que les protéines E1 et E2 suffisent à maintenir l'ADN viral sous forme épisomale et à faciliter sa ségrégation au moment de la division cellulaire au cours de laquelle le nombre de cellules basales portant le virus augmente (You *et al.*, 2004). Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille (Doorbar, 2005).

5.4. Prolifération cellulaire

Contrairement aux cellules non infectées qui, une fois qu'elles se détachent de la lame basale, arrêtent leurs division pour entrer dans un processus de différenciation en migrant vers la région suprabasale, les cellules filles infectées continuent leurs prolifération sous l'effet des protéines E6 et E7 qui sont exprimées dans ces cellules et qui désactivent le blocage du cycle cellulaire pour permettre la poursuite de la réplication de l'ADN viral. Les protéines E6 et E7 sont exprimés en petite quantité sous l'action trans-inhibitrice de E2 [(Stubenrauch *et al.*, 1999) ; (Beglin *et al.*, 2009)].

5.5. Encapsidation et libération des virions

Les cellules infectées migrent ensuite vers les couches supérieures de l'épithélium pour poursuivre leur différenciation. Les changements d'environnement de la cellule et les signaux de différenciation provoquent l'activation du promoteur tardif permettant l'expression des protéines de capsid L1 et L2 et aboutissant à la formation de la capsid et la synthèse de nouveaux virions [(McBride, 2008) ; (Mougin *et al.*, 2008)]. La protéine E4, bien que codée par un gène précoce, est considérée comme une protéine tardive et est exprimé en parallèle avec les protéines L1 et L2. Elle facilite l'encapsidation du génome et la destruction des filaments de la cytokératine pour la libération des virions. Les virions sont libérés suite à la desquamation [(Peh *et al.*, 2002) ; (Prétet *et al.*, 2007)].

Les virus ainsi libérés peuvent soit contaminer le même tissu ou un autre tissu sain de l'individu soit être transmis à une tierce personne.

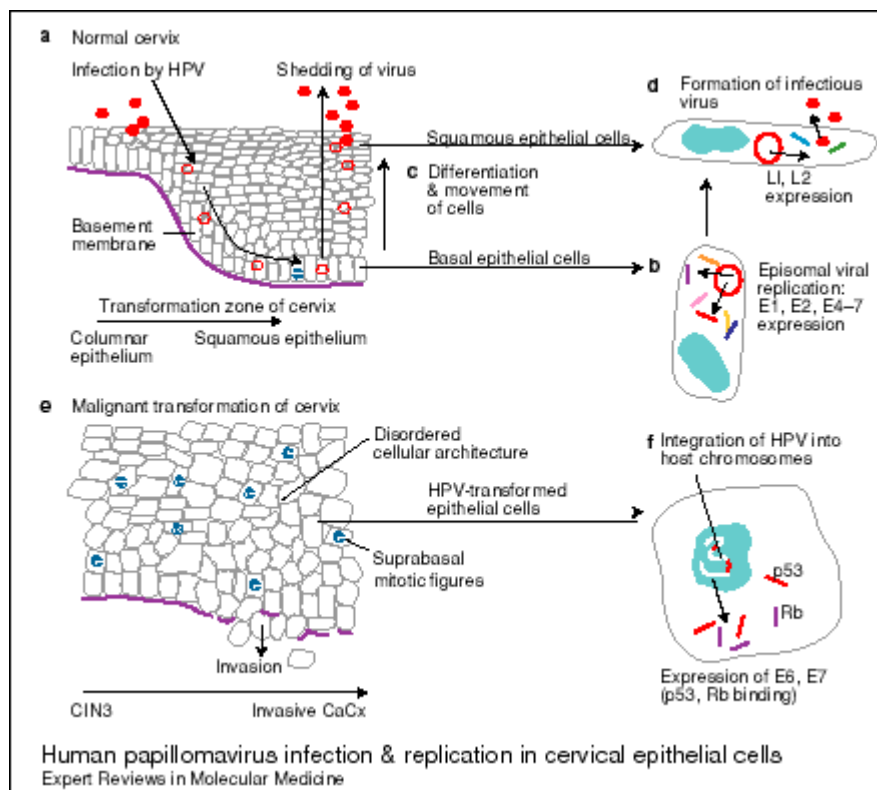


Figure I.3 : cycle viral du Papillomavirus Humain (Mclaughlin-Drubin et Münger., 2009)

6. Types d'infection à HPV

Trois types d'infection sont distingués selon l'évolution du cycle cellulaire : l'infection productive, l'infection latente et l'infection transformante.

6.1. Infection productive

C'est une infection active, elle correspond au cycle normal de l'HPV, décrit ci-dessus, elle aboutit à la production de virions, elle concerne tous les types d'HPV oncogènes ou non oncogènes. Elle est caractérisée par la forme extra-chromosomique du génome, la production élevée des protéines de structure L1 et L2 et par une production faible des protéines E6 et E7 car ils sont contrôlés négativement par la protéine E2. Le temps du cycle productif est d'environ 3 semaines, le temps nécessaire à la différenciation complète d'un kératinocyte. Son effet cytopathogène se traduit par la présence de koilocytes, des cellules caractérisées par une vacuolisation cytoplasmique péri-nucléaire avec un cytoplasme périphérique densifié, associé à un noyau augmenté de volume et à une chromatine irrégulière [(Blanc, 2005) ; (Denis et al., 2008) ; (Fradet-Turcotte, 2011)].

Cette infection évolue généralement dans un sens d'une clairance virale qui disparaît après 3 à 6 mois pour l'HPV à bas risque et entre 12 et 18 mois pour l'HPV à haut risque aboutissant ainsi à la guérison spontanée de l'infection. Cependant, dans certains cas, l'ADN viral peut persister dans un état latent ou dans un état malin (Denis et al., 2008).

6.2. Infection latente

Cet état correspond à la persistance de l'HPV sous forme épisomale. Il peut être du fait soit du type soit de l'hôte. Une infection latente n'est caractérisée par aucune anomalie cytologique ni histologique, elle peut être maintenue pendant de nombreuses années et elle peut se réactiver en une infection active entraînée généralement par une immunosuppression [(Doorbar, 2005) ; (Denis et al., 2008) ; (Maglennon et al., 2014)].

6.3. Infection aboutissant à la carcinogénèse

La transformation maligne débute toujours dans les cellules basales où le génome viral s'intègre aux chromosomes des kératinocytes favorisant leur instabilité (Blanc, 2005). L'intégration semble être un événement décisif dans le développement tumoral, c'est une caractéristique des HPV à haut risque. Elle se réalise après linéarisation suite à la rupture des ORF (phases ouvertes de lecture) E1/E2 entraînant la perte de l'ORF E4 et l'inactivation de la

protéine E2. Les sites d'intégration dans le génome cellulaire semblent aléatoires, la recombinaison s'avérant plus facile au niveau des régions de grande instabilité génomique, sans pour autant que de véritables points chauds d'intégration n'aient été identifiés [(Chaiwongkot et al., 2013) ; (McBride et Warburton, 2017)]. A cette étape de transformation, les transcrits L1 et L2 disparaissent progressivement et la production des virions s'arrête.

L'inactivation de la protéine E2, répresseur des protéines E6 et E7 constitue un évènement clef dans l'oncogenèse car, suite à cet évènement les protéines E6 et E7 sont synthétisées en quantité importante et vont interagir avec les deux protéines de la cellule hôte la p53 (protéine 53) et la pRb (protéine rétinoblastome), qui sont des suppresseurs de tumeur, bloquant ainsi la fonction suppressive de la transformation et activant l'immortalisation des cellules transformées (Mougin et al., 2006).

La protéine E6 des HPV à haut risque à la propriété de se lier, avec une haute affinité, à la protéine p53 et de promouvoir sa dégradation par protéolyse. La p53, protéine gardien du génome, a pour rôle d'empêcher la prolifération de cellules susceptibles de devenir cancéreuses, son activation entraîne l'arrêt transitoire du cycle cellulaire en phase G1 ou la mort des cellules par apoptose. Une fois que la p53 est dégradée par E6, la cellule n'est plus maintenue en G1 et perd son aptitude à corriger les lésions de l'ADN (Lorenz et al., 2013).

La protéine E7 est capable de se lier, avec une haute affinité à la pRb. La pRb a pour rôle d'inhiber la fonction du facteur de transcription E2F (protéine indispensable à l'entrée de la cellule en phase S et à l'activation de certains gènes impliqués dans la réplication de l'ADN). La liaison de la pRb à E7 favorise la dissociation du complexe pRb - E2F. Les facteurs E2F ainsi libérés transactivent précocement les gènes codant les protéines impliquées dans la synthèse d'ADN et induisent la progression cellulaire [(Mclaughlin-Drubin et Münger, 2009) ; (Rabachini et al., 2018)].

La population cellulaire acquiert alors la capacité de proliférer et d'être immortalisée ce qui favorise sa progression vers un phénotype malin (Mougin et al., 2006).

La protéine E5 semble aussi jouer un rôle dans le processus de transformation tumorale. Cette protéine est capable d'induire la transformation des fibroblaste et de kératynocytes de rongeur et augmentent le pouvoir transformant de certains oncogènes Ras (Badoual et al., 2013).

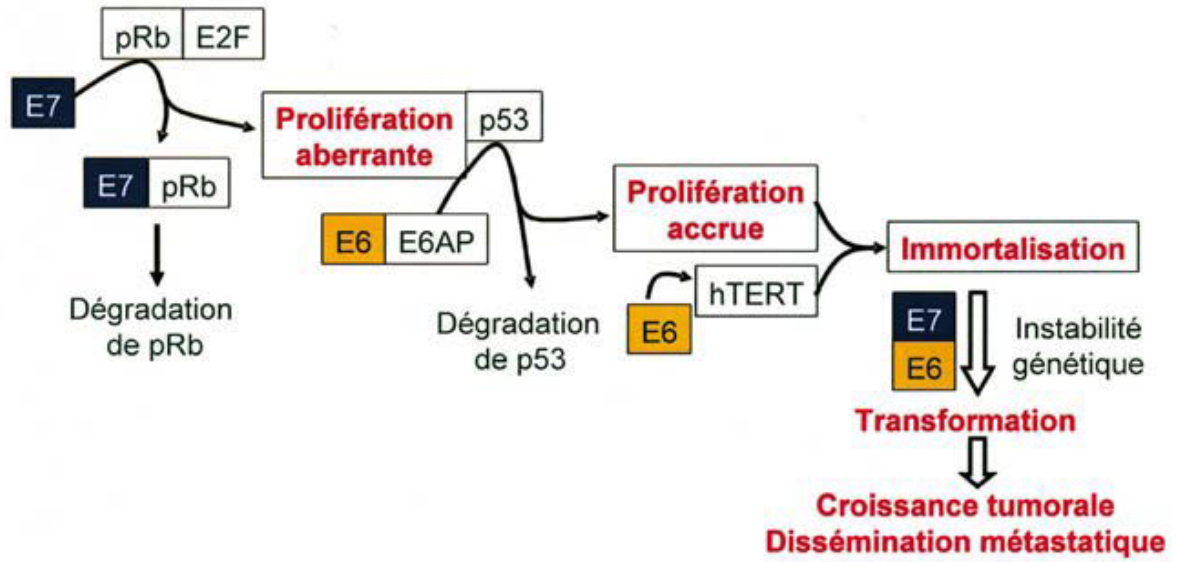


Figure I.4 : Principales étapes de la carcinogénèse associée à E7 et E6 des HR-HPV (Mougin et al., 2006)

Chapitre 2 : Le Cancer du col de l'utérus

1. Le col de l'utérus

Le col de l'utérus, correspond au tiers inférieur de l'utérus. Il mesure 3 cm de long pour 2,5 cm de diamètre. Il est constitué d'un tissu fibromusculaire dense tapissé de deux épithéliums (malpighien et glandulaire).

Le col utérin comporte deux parties : l'exocol et l'endocol. L'exocol correspond à la partie inférieure du col, il s'avance dans le vagin et est tapissé d'un épithélium malpighien quant à l'endocol, il correspond aux deux tiers supérieurs (Figure 1.4). Il est situé au-dessus du vagin et est tapissé d'un épithélium glandulaire [(Chard et Grudzinskas, 1994) ; (Singer et Jordan, 2006) ; (OMS, 2007)].

La zone de passage entre ces deux parties se nomme la zone de jonction. Elle s'appelle aussi zone de transformation car elle est en permanente évolution au cours de la vie génitale. C'est une zone de fragilité immunitaire avec une moindre résistance aux agressions, aux HPV en particulier. D'ailleurs c'est dans cette zone que débute, en général, le cancer du col utérin [(Mougin et al., 2006) ; Quéreux et al., 2007)].

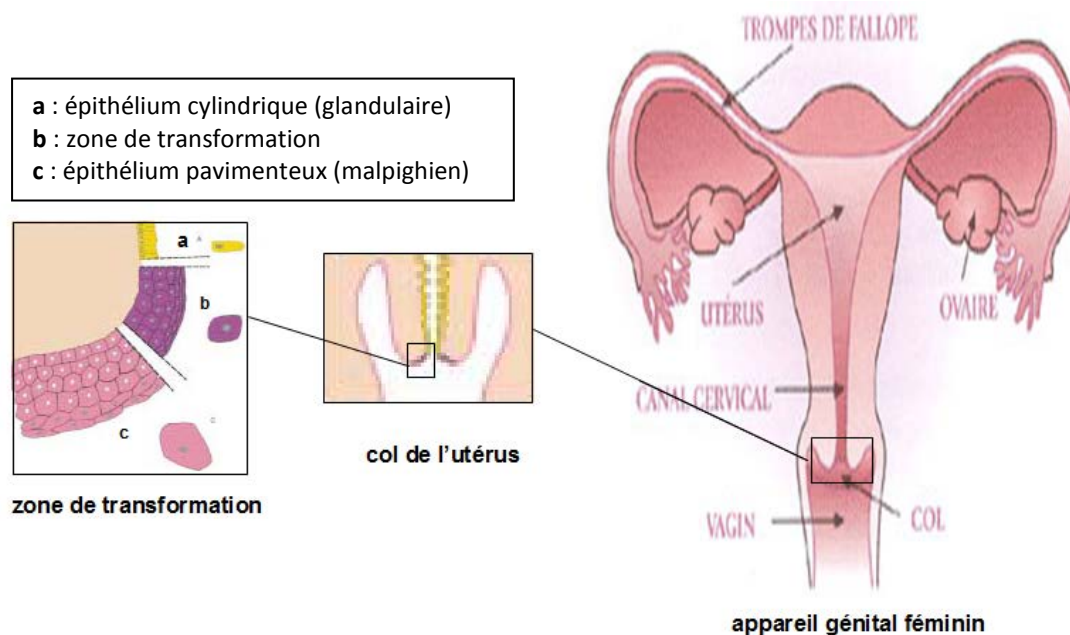


Figure I.5 : Structure anatomique et histologique du col de l'utérus
(Arbyn, 2002)

2. Présentation du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus constitue la première tumeur solide viro-induite, il est donc une maladie d'origine infectieuse à évolution lente qui met en général plus de quinze ans à se développer, depuis la primo-infection par un papillomavirus humain oncogène à tropisme génital jusqu'aux différentes lésions histologiques précancéreuses accompagnant la persistance de l'infection, voire un cancer invasif [(Héraud et al., 2003) ; (Duport, 2008)].

On distingue deux types de cancer :

➤ **Le carcinome malpighien** (appelé aussi carcinome épidermoïde) retrouvé dans 90% à 95% des cas de cancer du col. Il se développe à partir de l'exocol, essentiellement à partir de la zone de jonction exocol-endocol. Les lésions sont donc strictement intra-épithéliales, plus ou moins étendues et assez souvent plurifocales. Elles peuvent rester limitées à l'épithélium de surface ou coloniser des récessus glandulaires.

➤ **L'adénocarcinome** constitue 2 à 8% des cas du cancer du col, il se développe à partir de l'endocol. Il est défini comme une prolifération cellulaire carcinomateuse de l'épithélium glandulaire de surface et/ou des récessus sans invasion du chorion [(OMS, 2007) ; (Duport, 2008)].

3. Histoire naturelle du cancer du col de l'utérus et nomenclature des lésions précancéreuses du col utérin

L'histoire naturelle du cancer du col de l'utérus se déroule suite à la persistance de l'infection génitale par un HPV à haut risque, suivie d'une succession de lésions précancéreuses, aboutissant à un cancer invasif.

Les lésions intraépithéliales précancéreuses du col, appelées dysplasies ou encore néoplasies intraépithéliales cervicales, représentent des anomalies dont l'aspect histocytologique est intermédiaire entre un épithélium normal et un carcinome *in situ* [(Richart, 1973) ; (OMS, 2007)]. Elles sont caractérisées par une désorganisation architecturale avec une prolifération de cellules indifférenciées et une présence d'atypies nucléaires et de figures de mitose anormale [(Monge, 2006) ; (Bergeron, 2008)].

Il existe plusieurs systèmes de classification et de dénomination de ces lésions précancéreuses. Ils reposent tous sur la hauteur de l'épithélium présentant des anomalies. Le système de Bethesda est le modèle le plus utilisé en cytologie, il existe depuis 1988 aux états unis et a été réactualisé en 2001 (Annexe 1). Il divise les lésions en deux grades : lésion intraépithéliale de bas grade (*Low grade squamous intraepithelial lesion* ou LSIL) et lésion

intraépithéliale de haut grade (*High grade squamous intraepithelial lesion* ou HSIL) tout en tenant compte des atypies ambiguës (*Atypical squamous cells undetermined significance* ou ASCUS) (tableau I.3) [(Monsonogo, 2006) ; (OMS, 2007)]. Cependant, en histologie, les résultats sont généralement interprétés selon la classification des néoplasies cervicales intraépithéliales (*Cervical intraepithelial neoplasia* ou CIN), qui permet de diviser les lésions en trois grades, CIN1, CIN2 et CIN3 (tableau I.3) [(Monsonogo, 2007) ; (OMS, 2017)].

Le système de codage de la classification internationale des maladies pour les dysplasies et les néoplasies du col de l'utérus suit le schéma OMS indiqué dans la colonne de gauche du tableau I.3 (OMS, 2017).

Tableau I.3 : Correspondance entre les différentes classifications des lésions épidermoïdes du col utérin (OMS, 2017).

OMS	Histologie (Richart)	Cytologie (Betheda)
Normal	Normal	Normal
Atypie	Atypie	ASCUS ASCH
Koilocytose	CIN 1 y compris condylome	LSIL
Dysplasie modérée	CIN 2	HSIL
Dysplasie sévère	CIN 3	
Carcinome in situ		
Cancer invasif	Cancer invasif	Cancer invasif

CIN : néoplasies cervicales intraépithéliales ; ASCUS : atypies cellulaires de signification indéterminée ASCH : atypies cellulaires ne pouvant pas exclure une lésion haut grade ; LSIL : lésion épidermoïde intraépithéliale de bas grade ; HSIL lésion intraépithéliale de haut grade

La séquence des lésions précancéreuses dans le développement du cancer invasif est la suivante : Col normal → CIN1 → CIN2 → CIN3 (ou cancer *in situ*) → cancer invasif (Figure I.6).

Certains stades sont facultatifs (CIN1 et CIN2), à la différence de CIN3 qui constitue un passage nécessaire à l'apparition du cancer invasif [(Monsonogo, 2006) ; (OMS, 2007)].

Toutes les lésions, en fonction de leur gravité, possèdent un potentiel de régression, de stabilisation ou d'évolution vers le cancer invasif accompagnant la clairance virale ; ainsi la majorité des lésions de bas grade régresse spontanément, contrairement aux lésions de haut grade qui régressent d'un moindre degré [(Ostor, 1993) ; (Moscicki et al., 2012)].

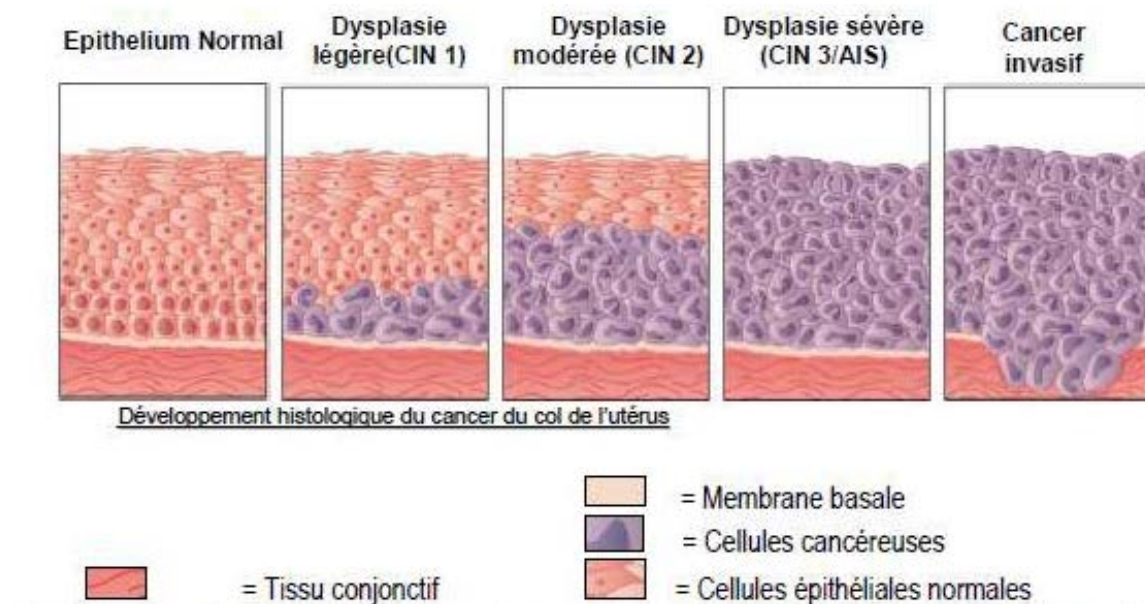


Figure I.6 : Evolution des lésions précancéreuses vers un cancer du col utérin invasif
(Syrjänen et Syrjänen, 2001)

Le carcinome invasif est caractérisé par une effraction de la lame basale et un envahissement du chorion sous-jacent par les cellules tumorales. Ce processus débute par un stade microinvasif, invisible à l'œil nu lors de l'examen au spéculum et qui ne peut être diagnostiqué qu'après examen histologique. Le carcinome évolue ensuite vers des lésions plus importantes suivant les étapes suivantes :

- Propagation à l'intérieur du col (atteinte du col et du corps utérin)
- Propagation aux structures voisines (vessie ou rectum)
- Propagation par voie lymphatique
- Métastases à distance [(Monsonogo, 2007) ; (OMS, 2007)].

4. Facteurs de risque

Le papillomavirus humain constitue la cause nécessaire pour le développement du cancer du col utérin, mais non suffisante ; des co-facteurs vont favoriser la carcinogénèse : certains sont liés au virus, d'autres sont liés à l'individu infecté.

4.1. Les facteurs liés au virus

4.1.1. Persistance du virus

La persistance des HPV à haut risque constitue le principal facteur de risque. Elle se traduit par la détection du même type d'HPV sur deux prélèvements cervicaux à un an d'intervalle.

4.1.2. Type du virus

Parmi les HPV à haut risque, certains sont associés à plus de cancer et de néoplasie sévères que d'autres. L'HPV 16 est responsable, à lui seul, de plus de 50% des cancers du col. L'HPV 18, le second en termes de fréquence, est retrouvé dans plus de 15% des cas. Globalement, à l'échelon mondial, environ 70% des cancers du col sont associés aux HPV 16 et 18 (**Clifford et al., 2006**).

4.1.3. Charge virale

Plusieurs études suggèrent que la charge virale progresse parallèlement au développement des lésions précancéreuses (**Kovacic et al., 2006**).

4.1.4. Co-infection de plusieurs types d'HPV

la présence de plusieurs types d'HPV chez le même individu était associée au développement de néoplasies intraépithéliales dans plusieurs études (**Garbugliaa et al., 2012**).

4.2. Les facteurs propres à l'individu

4.2.1. Age

L'infection à HPV est généralement fréquente avant 30 ans. La prévalence diminue ensuite rapidement avec l'âge, traduisant le caractère transitoire de l'infection HPV. Sa présence après l'âge de 35 ans se traduit souvent par une infection persistante (**Louie et al., 2008**).

4.2.2. Facteurs génétiques

Certains facteurs génétiques sont également impliqués ; ces facteurs sont en rapport notamment avec le groupe de gènes dans le complexe majeur d'histocompatibilité humain (CMH) qui code pour les protéines présentatrices d'antigène de surface ou le système HLA (Human Leukocyte Antigen) (par exemple : expression de l'allèle HLA-DQB1*0301 seul ou combiné avec l'allèle HLA-DRB1*0401) (**Duport, 2008**).

4.2.3. Comportements sexuels

la précocité du premier rapport sexuel, la multiplicité des partenaires et la polygamie du partenaire sont des facteurs qui augmentent le risque de l'infection par HPV et donc le risque du développement du cancer (**Castellsagué et al., 2014**).

4.2.4. Statut immunitaire

L'infection par le VIH favorise la persistance de l'HPV, les récurrences et la réactivation d'une infection latente. Elle favorise aussi l'évolution rapide des lésions précancéreuses et cancéreuses. L'immunodépression consécutive aux traitements donnés aux receveurs d'organes peut aussi être à l'origine d'un sur-risque de ce cancer [(Berrébi, 2008) ; (Denis et al., 2008) ; (Ezechi et al., 2014)].

4.2.5. Grossesse

Le nombre de grossesses élevé (plus de trois grossesses) favorise l'infection à HPV du fait qu'elles soient une période où la zone de jonction (site préférée des papillomavirus) est plus étendue, elle favorise aussi le développement de cancer du fait des modifications hormonales, immunologiques et des traumatismes à l'accouchement (Monsonogo, 2006).

4.3.6. Contraception orale

Certaines études ont démontré que le risque de cancer du col invasif double chez les femmes prenant des contraceptifs oraux depuis plus de 10 ans par rapport à celles n'en ayant jamais utilisé [(Smith et al., 2003) ; (Louie et al., 2008)].

4.3.7. Tabagisme

Les fumeuses ont un risque accru de développer un cancer du col par rapport aux femmes qui ne fument pas (Louie et al., 2008).

4.3.8. Facteur nutritionnel

Les preuves disponibles d'un lien entre état nutritionnel et carcinogénèse ne sont pas convaincantes. Il est probable que certains aliments ont un effet protecteur de néoplasie tel que l'acide folique, le rétinol et la vitamine E et que un taux élevé en homocystéine dans le sang constitue un risque accru de néoplasie cervicale (Garcia-Closas et al., 2005).

4.3.9. Le niveau socio-économique

Les femmes d'un niveau socio-économique faible ont souvent des revenus limités, une mauvaise alimentation, un niveau d'éducation faible, une méconnaissance des comportements préventifs et un accès restreint au dépistage [(Louie et al., 2008) ; (Bernard et al., 2013)].

5. Prévention du cancer du col utérin

Puisque l'on connaît l'étiologie principale de ce cancer qui est le papillomavirus humain, sa physiopathologie (intégration du génome viral et transformation cellulaire) et vu

qu'il soit précédé par une longue phase pré-invasive, des moyens préventifs ont pu être conçus pour empêcher son développement: la vaccination qui constitue la prévention primaire, le dépistage qui correspond à la prévention secondaire et le traitement des lésions dépistées qui constitue une prévention tertiaire (OMS, 2017).

5.1. Vaccination (prévention primaire)

Les papillomavirus humains sont la cause nécessaire des cancers du col de l'utérus. Ceci offre, une possibilité de prévenir le développement de ces cancers en empêchant l'infection par une vaccination.

La découverte de la vaccination prophylactique contre l'HPV est venue de la capacité de la protéine majeure de la capsid L1 à s'auto-assembler en absence d'autres protéines virales pour former des particules virales vides ressemblant à des capsides. Ces particules dénommées VLP (*virus-like particle*) possèdent les mêmes épitopes conformationnels que la protéine native. Ne contenant pas d'élément génomique, les VLP sont parfaitement inoffensives. Elles sont associées à un adjuvant aluminium pour stimuler le système immunitaire ce qui leur confère le caractère très immunogène [(Boulanger 2007) ; (Dorans, 2009)].

Trois vaccins sont actuellement disponibles :

➤ **Le vaccin Cervarix®**, commercialisé par la société Glaxo Smith Kline (GSK), est un vaccin bivalent dirigé contre les deux génotypes 16 et 18 impliqués dans 70% des cancers du col. Il a pour objectif de protéger contre le développement de lésions précancéreuses et du cancer du col utérin, l'autorisation de sa mise en marché a été obtenue en 2007.

➤ **Le vaccin Gardasil®**, commercialisé par Sanofi Pasteur-Merck Sharp and Dohme (MSD), est un vaccin quadrivalent dirigé contre les génotypes 6, 11, 16 et 18, permettant de protéger à la fois contre les condylomes et contre le cancer du col. Il a obtenu l'autorisation de mise en marché en 2006 [(Monsonogo, 2007)].

➤ **Le vaccin Gardasil 9®** est un vaccin nonavalent qui cible en plus de l'HPV 16,18, 6 et 11, les HR-HPV 31, 33, 45, 52, 58 dont l'implication est majoritaire dans les cancers anogénitaux au niveau mondial global. Il a obtenu l'autorisation de mise en marché en 2015 [(Hartwig et al., 2015) ; (Iversen et al., 2016) ; (Giuliano et al., 2019)].

Ces vaccins induisent une forte production d'anticorps spécifiques des types HPV ciblés qui, lors d'une contamination, vont empêcher la liaison des virions aux protéoglycanes de la membrane basale épithéliale et inhiber la fixation des virions sur les kératinocytes.

Les vaccins prophylactiques ciblent la population féminine de 9 à 26 ans, ils présentent une meilleure efficacité avant l'exposition à l'infection à HPV, c'est-à-dire avant le début de la vie sexuelle [(Stanley, 2008) ; (Monnat et Wallingto, 2013)].

Dans les pays développés, la vaccination préventive est pratiquée à grande échelle, selon des programmes nationaux avec des modalités qui diffèrent d'un pays à l'autre. En revanche, elle reste inaccessible dans les pays en voie de développement en raison de leur coût élevé.

Le vaccin prophylactique ne permet pas d'éliminer une lésion déjà installée. Cependant, un vaccin thérapeutique a été développé. Ce vaccin est une forme d'immunothérapie, son but est de sensibiliser les cellules immunocompétente pour neutraliser l'infection HPV déjà installée et faire régresser les lésions précancéreuses, voire les cancers du col utérins (Brun, 2008).

La vaccination ne signifie pas la fin du dépistage pour plusieurs raisons : elle nécessite une surveillance cytologique des femmes après leur vaccination et elle ne protège pas contre tous les types d'HPV. Les femmes vaccinées doivent donc continuer à bénéficier d'un dépistage [(Orth, 2005) ; (OMS, 2017)].

5.2. Dépistage (prévention secondaire)

Le cancer du col utérin est l'un des rares cancers humains évitables, précédé de nombreuses lésions précancéreuses curables, ce cancer est un candidat idéal pour le dépistage. Ce dernier est basé sur le diagnostic très précoce des lésions bénignes ou précancéreuses dont le traitement rend, en principe, impossible le développement d'un cancer (Monsonogo, 2007).

Le dépistage est efficace lorsqu'il est associé à un système bien organisé de suivi et de traitement. C'est ainsi que l'incidence et la mortalité liées à ce cancer ont pris une régression importante dans les pays développés qui l'ont adopté [(Norstrom et Radberg, 2002) ; (Padberg et al., 2002)]. En revanche, il est bien établi que dans les pays en développement, la cause principale de ce cancer est l'absence de dépistage et d'infrastructures médicales (Monsonogo, 2007).

Le dépistage du cancer du col de l'utérus est fondé sur le diagnostic d'anomalies morphologique présentes dans le col utérin, par examen cytologique qui, selon les indications, peut être suivie d'une colposcopie ou d'une biopsie. C'est ce qu'on appelle le trépied cytologie/colposcopie/histologie (Rampal, 2000).

5.2.1. L'examen cytologique ou le frottis cervico-utérin (FCU)

Le FCU constitue le test clef du dépistage. Il correspond à un examen microscopique du prélèvement cervical permettant la détection de cellules anormales pouvant correspondre à la présence d'une lésion précancéreuse. Le prélèvement est réalisé dans la zone de transformation, au moyen d'une spatule ou d'une cytobrosse, de façon à obtenir des cellules malpighiennes (exocervicales) et cylindriques (endocervicales) (**Bergeron, 2005**).

Il existe deux techniques pour la réalisation du frottis : Le frottis conventionnel décrit en 1943 par Papanicolaou, il consiste à étaler le matériel prélevé, le fixer et le colorer sur une lame en verre, il sera ensuite examiné sous microscope (**Leopold et Koss, 1989**) et le frottis en couche mince (cytologie en milieu liquide) introduit au milieu des années 1990 et consiste à la mise en suspension du prélèvement dans un milieu liquide adéquat afin d'éliminer le mucus, les cellules inflammatoires, le sang et les globules blancs qui peuvent gêner l'interprétation [(**Blanc, 2005**) ; (**Dachez, 2008**)]. Les cellules sont ensuite transférées sur une couche mince permettant ainsi une interprétation plus aisée des anomalies cytologiques. De plus, le frottis en milieu liquide permet l'utilisation du matériel résiduel pour d'autres méthodes diagnostiques, en particulier la réalisation d'un test HPV (**Monsonogo, 2007**).

L'interprétation du FCU se fait généralement selon la classification de Bethesda qui est accompagnée de recommandations en matière de qualité du frottis (annexe 1).

Ce test de dépistage est peu coûteux et techniquement simple cependant il reste peu sensible et présente le problème des résultats faussement négatifs.

5.2.2. La colposcopie

La colposcopie est un examen visuel du col de l'utérus à l'aide d'un colposcope qui permet d'avoir une vision du col avec un grossissement de 20 à 50 fois avant et après application d'acide acétique et coloration au Lugol. Les lésions apparaissent blanchâtres sous l'action de l'acide acétique et non colorées après l'application du lugol.

La colposcopie permet de distinguer les modifications non significatives (inflammation, polypes...), significatives (koilocyte, lésion bas grade) et hautement significatives évoquant un cancer (**Mergui et al., 2008**). Elle est utilisée aussi, pour localiser une anomalie et permettre un prélèvement biopsique bien ciblé (**Quereux et al., 2005**).

5.2.3. La biopsie

La biopsie est un prélèvement d'une petite pièce de tissu qui constitue la partie la plus suspecte de la lésion, à l'aide d'une pince, qui sera ensuite fixée pour être examinée au microscope. Elle peut être réalisée directement si la lésion est visible ou sous repérage colposcopique (biopsie colposcopique). La biopsie permet un diagnostic histologique certain en fonction du niveau de l'atteinte de l'épithélium. Cependant, le matériel prélevé doit être de bonne qualité, interprétable et fixé juste après le prélèvement **(OMS, 2017)**.

5.2.4. Test HPV

En regard du fort taux de faux négatifs et faux positifs par les examens morphologiques du dépistage, et de la forte association entre l'HR-HPV et le cancer du col, l'intégration du test HPV dans le dépistage de ce cancer s'est imposée. Ce test consiste à la détection de l'ADN des types d'HPV à haut risque par des techniques de biologie moléculaire dans les prélèvements cervicaux-utérins récoltés dans des milieux liquides adéquats **(Riethmuller et al., 2008)**.

Le test HPV est utilisé soit en association avec l'examen cytologique, soit pour trier des ASC-US ou en surveillance post-thérapeutique.

➤ En association au frottis cervico-utérin, le test HPV a une valeur prédictive négative élevée, proche de 100 %, ce qui permet d'élargir l'intervalle entre les tests car si les deux examens cytologiques et moléculaires sont négatifs, le risque de développer un cancer dans les années suivantes est quasi-nul. il permet aussi, d'affirmer ou d'infirmer la présence d'une anomalie et d'orienter la démarche thérapeutique **[(Arbyn et al., 2006) ; (Aubin et al., 2007)]**. Ce test est recommandé chez les femmes de plus de 30 ans permettant par là de sélectionner les femmes présentant un portage persistant du virus et étant de ce fait à risque de cancer. il est inutile chez les femmes de moins de 30 ans, car si une grande partie d'entre elles présente bien une infection a HPV, la plupart de ces infections sont transitoires et seront éliminées spontanément de leur corps en 6 à 12 mois **[(Riethmuller et al., 2008) ; (OMS, 2017)]**.

➤ Le triage des ASC-US avec le test HPV est aussi sensible que la colposcopie mais a l'avantage de n'orienter que les femmes à risque en colposcopie, réduisant ainsi les surdiagnostics et les surtraitements liés aux biopsies sous colposcopie. Et lorsqu'il est négatif il peut rassurer la femme car les anomalies détectées ne risquent pas d'évoluer en pathologie cancéreuse **(Monsonogo, 2006)**.

➤ Dans la surveillance de patientes ayant bénéficiées de traitements, la persistance de l'infection à HPV est le meilleur facteur prédictif de lésion résiduelle et/ou de récurrence alors que sa clairance valide le succès thérapeutique (**Carcopino, 2010**).

5.3. Traitement des lésions précancéreuses dépistées (prévention tertiaire)

En effet, il n'existe pas de thérapie dirigée contre les papillomavirus, les traitements utilisés sont dirigés contre les lésions (**Segondy, 2007**). Avec un traitement approprié, le taux de guérison des lésions précancéreuses ou du carcinome devrait approcher les 100% (**SGOC, 1998**). Le choix du traitement dépend de plusieurs éléments : la formation et l'expérience du prestataire ; les moyens disponibles, la localisation et l'étendue de la lésion, les avantages et les inconvénients de chaque méthode.

Il existe deux types de méthodes de traitements des lésions précancéreuses les méthodes destructrices et les méthodes d'exérèses (tableau I.4) (**OMS, 2017**).

5.3.1. Méthodes destructrices

La destruction de la lésion peut être obtenue par : destruction chimique, électrocoagulation, cryothérapie et vaporisation laser.

Ces traitements sont à un moindre coût et plus faciles à mettre en œuvre que les exérèses. Ils ne nécessitent pas d'hospitalisation ; ils peuvent être appliqués en cabinet ou dans un dispensaire sans équipement sophistiqué [(**Douvier et Dalac, 2004**) ; (**Saah-Briffaut et al., 2006**) ; (**OMS, 2007**) ; (**Rimailho, 2007**) ; (**Arbyn et al., 2008**)].

5.3.2. Traitement par exérèse (ablation de la lésion)

L'ablation des lésions se fait par électrorésection ou par conisation. Le principal avantage de ces méthodes par rapports aux méthodes destructives demeure dans le fait qu'elles permettent de retirer l'épithélium affecté à la place de le détruire, permettant ainsi son examen histologique après excision [(**Rimailho, 2007**) ; (**OMS, 2017**)].

Tableau I.4 : procédure des méthodes destructrice et des méthodes par exérèse pour le traitement des lésions précancéreuses

Traitement des lésions précancéreuses		procédure
Traitement par destruction	destruction chimique	antimétabolite 5-fluoro-uracile, Acide trichloroacétique, Imiquimod
	électrocoagulation	applicable à l'aide d'une aiguille traversée par un courant à haute fréquence sur la lésion
	Cryothérapie	congelant par une sonde cryogénique au moyen de neige carbonique (CO ₂) ou d'azote liquide (N ₂ O)
	Vaporisation laser	destruction des lésions facilement visibles grâce à un faisceau laser
Traitement par exérèse	électrorésection	Exérèse des lésions à l'aide d'un fil métallique chauffée par un courant électrique
	conisation	l'exérèse d'un cône dont la base est exocervicale et le sommet endocervical (réalisée au bistouri froid ou au laser)

6. Traitement du cancer du col utérin

Les modalités thérapeutiques du cancer invasif dépendent des résultats histologiques et du stade de la maladie, de l'âge et de l'état général des patientes, leurs désirs de grossesse et des habitudes et des convictions des équipes prenant en charge les patientes. Plusieurs types de traitement peuvent être utilisés (OMS, 2017).

6.1. Chirurgie

6.1.1. Chirurgie radicale (hystérectomie radicale)

Elle consiste à retirer l'utérus, le col et les tissus environnant. L'hystérectomie radicale entraîne l'impossibilité totale et définitive de grossesse et la disparition définitive des règles. C'est l'intervention de référence des cancers du col curables chirurgicalement (OMS, 2017).

6.1.2. Chirurgie conservatrice (trachélectomie élargie)

Cette intervention consiste à enlever le col utérin, les paramètres, le tiers supérieur du vagin et la partie haute du paracolpos. L'objectif de cette intervention est de traiter chirurgicalement de manière conservatrice des patientes ayant un cancer invasif du col utérin

en préservant l'utérus et sa vascularisation et donc ainsi de préserver leur fertilité (**DGSS, 2016**).

6.2. Radiothérapie

Il existe deux grandes catégories de radiothérapie selon le positionnement de la source d'irradiation par rapport au patient : la radiothérapie externe dont la source d'irradiation est éloignée du patient et la curiethérapie qui consiste à placer des sources radioactives au contact ou à l'intérieur de tissus tumoraux (**OMS, 2007**).

6.3. Chimiothérapie

La chimiothérapie est utilisée soit en traitement néo-adjuvant (traitement initial de la tumeur) soit, généralement plus efficace, de façon concomitante à la radiothérapie externe, pour potentialiser l'effet de l'irradiation (**Morice et al., 2007**).

Chapitre 3 : HPV et cancer du col utérin chez les femmes infectées par le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH)

1. HPV et Système immunitaire

1.1. Réponse immunitaire contre une infection naturelle par HPV

Le contrôle de l'infection naturelle par les HPV implique une réponse immunitaire locale en vue de s'opposer à la pénétration du virus dans les cellules cibles et à sa persistance (**Mougin et al., 2009**). Beaucoup de travaux ont permis de distinguer une immunité dirigée contre les protéines de structure du virus et une immunité dirigée contre les protéines précoces du virus. La réponse immunitaire dirigée contre les protéines structurales est basée sur l'induction d'anticorps neutralisants contre les protéines L1 et L2 qui s'oppose à la pénétration du virus dans les cellules cibles, tandis que la réponse immunitaire dirigée contre les protéines précoces est dirigée contre l'extension des lésions existantes et leur transformation (**Coursaget et Touzé, 2008**).

Après pénétration des particules virales dans les kératinocytes, les antigènes seront présentés à la surface de la cellule infectée, soit sous forme de peptides de petite taille (8 à 11 acides aminés) en association avec les molécules CMH de classe I ou de peptides de plus grande taille (13 à 25 acides aminés) en association avec les molécules CMH de classe II présentes sur les kératinocytes infectés (**Monsonogo, 2006**). Les cellules de Langerhans, (cellules dendritiques présentatrice d'antigène), présentes naturellement dans les muqueuses, ont la capacité de captation, d'apprêtement des antigènes viraux exprimés et de migration vers les organes lymphoïdes drainant les sites concernés pour transporter les antigènes viraux.

Une fois dans les organes lymphoïdes, les cellules de Langerhans, elles même ou via d'autres cellules dendritiques, présenteront les antigènes viraux aux lymphocytes T CD4+ (cluster de différenciation 4) et CD8+ (figure 1.7) [(**Douvier et Dalac, 2004**) ; (**Monsonogo, 2007**)].

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

Les lymphocytes T CD8+ ont la capacité de détruire par cytotoxicité les kératinocytes infectés. Pour être optimisés, c'est à dire être plus affins et mémoires, ces lymphocytes T CD8+ ont besoin d'aide de la part des lymphocytes T CD4+.

L'antigène peut aussi être capté, dans les organes lymphoïdes, par un lymphocyte B. Après internalisation de l'antigène, le lymphocyte B peut synthétiser des immunoglobulines M (IgM) spécifiques de l'antigène. Ce n'est que grâce à une interaction avec un lymphocyte T CD4+ que la commutation de l'isotype de l'immunoglobuline peut se faire en IgG, IgA ou IgE, ce qui augmente à la fois la spécificité et l'affinité de l'immunoglobuline pour son antigène (figure 1.7) (Mougin et al., 2009).

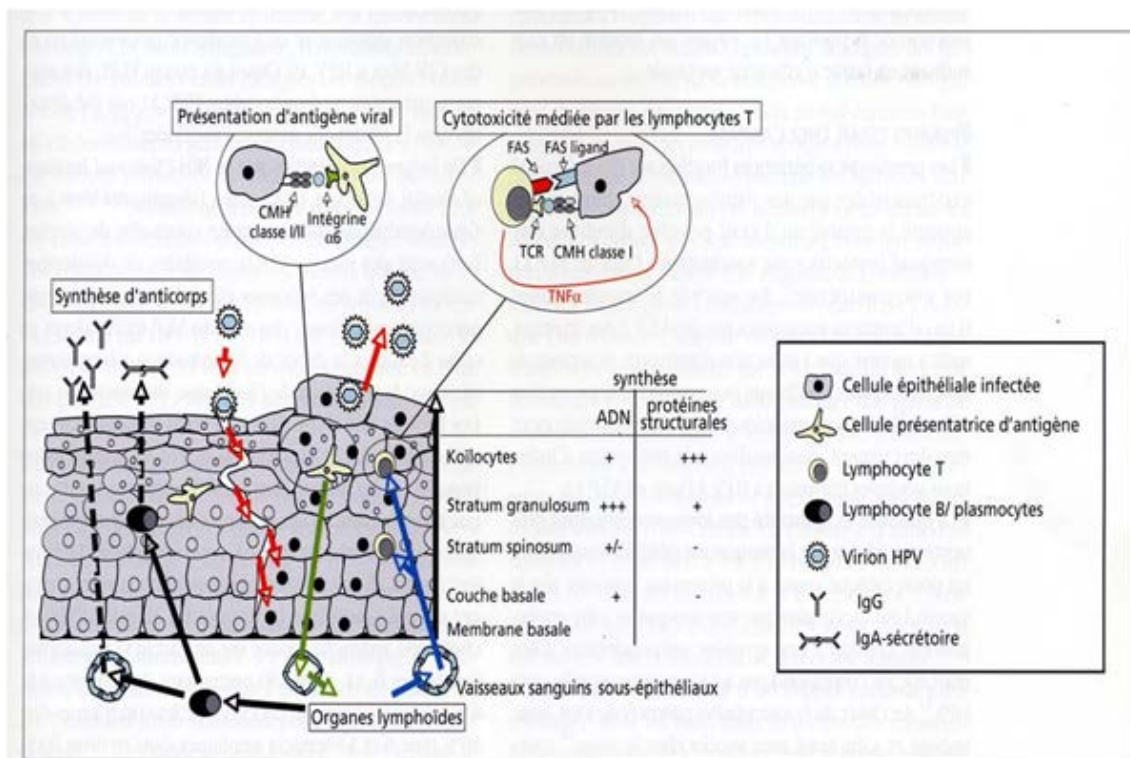


Figure I.7 : Réponse immunitaire dirigée contre l'HPV
(Vabret, 2015)

Le lymphocyte T CD4+ joue donc, un rôle clé dans la défense naturelle anti-papillomavirus. Beaucoup de travaux ont suggéré aussi que ces lymphocytes présentent une activité fondamentale dans la régression des lésions [(Hopfl et al., 2000) ; (Monsonogo, 2006) ; (Denis et al., 2008)].

L'immunité cellulaire anti-HPV semble être efficace chez la très grande majorité des femmes infectées. Cependant, dans certaines situations l'HPV peut échapper au système immunitaire ce qui favorise la persistance de l'infection et la progression des lésions jusqu'à un grade élevé (Mougin et al., 2009).

1.2. Echappement des HPV à la réponse immunitaire

Chez certains sujets, les HPV à haut-risque échappent au système immunitaire comme en témoignent les infections persistantes ou récidivantes de même type et la progression des

lésions vers des formes précancéreuses et cancéreuses. Cette évasion du système immunitaire est liée soit à l'immunogénicité de l'HPV soit à la mise en jeu de mécanismes immunosuppresseurs. [(Coursaget et Touzé, 2008) ; (Denis et al., 2008)]. Les processus d'échappement immunitaire sont identifiables à différentes étapes de la réponse immunitaire. Selon l'ordre de ces étapes, les mécanismes d'échappement sont résumés comme suit:

➤ Les papillomavirus pénètrent dans les kératinocytes grâce à des récepteurs qui leurs sont propres et sont libérés, à un taux faible, par desquamation sans lyse cellulaire, n'entraînant aucune réaction inflammatoire détectable [(Douvier et Dalac, 2004) ; (Coursaget et Touzé, 2008) ; (Denis et al., 2008)]. La production des particules virales se fait seulement dans les couches superficielles de l'épithélium et avec un taux faible. Il en résulte un déficit de l'initiation de la réponse immunitaire [(Coursaget et Touzé, 2008)].

➤ La densité de présence des cellules de Langerhans, premières cellules du système immunitaire en contact avec le virus dans l'épithélium, est moindre au niveau de la zone de jonction (site où débute, en général, l'infection à HPV) [(Douvier et Dalac, 2004) ; (Mougin et al., 2009)].

➤ La protéine virale E5 diminue l'expression de la calnexine, impliquée dans la formation du complexe CMH-1 et de sa migration jusqu'à la membrane plasmique ce qui conduit à la sous-expression des CMH dans les cellules cancéreuses qui ne seront plus reconnus par les lymphocytes cytotoxiques [(Leykauf, 2004) ; (Coursaget et Touzé, 2008)].

➤ Les protéines E6 et E7 bloquent la production d'interféron de type I et la réponse à celui-ci par les cellules infectées.

➤ La protéine E6 inhibe l'interaction entre les cellules de Langerhans et les cellules épithéliales, ce qui pourrait contribuer à la déplétion en cellules dendritiques observée dans les épithéliums infectés par HPV (Segondy, 2010).

➤ La protéine virale E7 inhibe les fonctions anti-prolifératives et bloque la traduction du signal aux interférons par son interaction avec P48 (Barnard et McMillan, 1999) ; (Coursaget et Touzé, 2008).

➤ Les anticorps sont synthétisés tardivement 6 à 12 mois après l'infection et leur pic est d'intensité faible du fait de l'absence de virémie au cours de l'infection [(Monsonogo, 2006) ; (Coursaget et Touzé, 2008) ; (Mougin et al., 2009)].

L'absence de l'élimination de l'HPV peut être secondaire à la présence du virus lui-même, comme elle peut être générée par une anomalie primitive de la réponse immunitaire telle que l'immunodépression qui constitue le principal facteur de ces anomalies, notamment chez les individus infectés par le VIH.

2. Le VIH et son effet du sur le système immunitaire

2.1 Généralité

Le VIH est responsable de la plus grande pandémie virale. C'est un virus qui agit sur le système immunitaire en le fragilisant et permettant ainsi le développement des maladies opportunistes qui vont entraîner le décès de la personne.

Le VIH est un rétrovirus c'est à dire un virus à acide ribonucléique (ARN), de la famille des lentivirus. Il possède une très importante variabilité génétique et, de ce fait, présente une grande diversité. Deux sous types de VIH sont identifiés, le VIH-1 le type le plus répandu sur la planète et est responsable de la pandémie mondiale et le VIH-2 qui est limité à l'Afrique occidentale (**Gerbouin et Grellet, 2017**).

Ce virus est présent dans tous les liquides biologiques de l'organisme des personnes atteintes, en quantité suffisante pour permettre la contamination dans le sang, le sperme, le liquide séminal, les sécrétions vaginales et le lait maternel. La quantité de virus est trop faible dans les larmes, la salive, la sueur ou l'urine. Cependant, le principal mode de transmission reste la voie sexuelle ; la transmission lors de contacts usuels familiaux, professionnels ou scolaires n'est pas possible (**Fleury, 2009**).

2.2. Mode d'action du VIH et évolution de la maladie

Les cellules cibles du VIH sont celles présentant des récepteurs CD4 à leur surface. Ce sont en premier lieu les lymphocytes T CD4+, mais également les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules microgliales. C'est ce qui mène à une destruction progressive des mécanismes de défense, particulièrement de ceux dépendant de l'immunité cellulaire. Au cours de cette infection, on assiste à une diminution progressive du nombre de lymphocytes CD4+ qui est multifactorielle: effet cytopathogène directe du VIH, réponse cytotoxique des CD8+ dirigés contre les cellules CD4 infectées, phénomène d'apoptose et diminution de la régénération thymique [(**Breton, 2006**) ; (**Cauquil et al., 2014**) ; (**Gerbouin et Grellet, 2017**)].

La réduction progressive de la population de lymphocytes T CD4+ réduit la capacité du corps à prévenir les agents infectieux entraînant la survenue d'infections opportunistes chez les personnes infectées par le VIH et même la réactivation des infections dormantes, le système immunitaire est débordé et n'arrive plus à lutter ce qui est à l'origine du développement du Syndrome d'Immunodéficience Acquise, connu sous le nom du SIDA [(**Gluckman, 1996**) ; (**Girard et al., 2011**) ; (**Cauquil et al., 2014**)].

3. Infection à papillomavirus et cancer du col utérin chez les femmes séropositives pour le VIH

3.1. Caractéristiques de l'infection à HPV chez les femmes séropositives au VIH

Bien que l'HPV soit caractérisé par sa faible immunogénicité, le système immunitaire reste efficace chez la grande majorité des femmes infectées puisque 70% des infections sont transitoires et guérissent en un à trois ans. Il en résulte que les altérations du système immunitaire liées au VIH soient impliquées dans l'augmentation de l'incidence de l'HPV et de sa persistance chez les sujets infectés par le VIH [(Spano et al., 2005) ; (Louie et al., 2008) ; (Denis et Ardaens, 2011)].

L'augmentation de la prévalence des HPV, qu'il s'agisse d'HPV à haut risque, d'HPV à bas risque ou d'infections multiples, est liée aussi au mode de transmission commun des deux infections à HPV et à VIH (voie sexuelle) et à certaines habitudes comportementales qui constitue des facteurs de risque communs aux deux infections (Moscicki et al., 2004).

En effet, même en comparant les individus séropositifs au VIH entre eux, il a été constaté que plus le taux de CD4 diminuait, plus les prévalences à HPV augmentaient de ce fait, il est suggéré que la baisse du taux de CD4 est responsable de la réactivation et de la persistance des HPV, en particulier, pour les HPV à haut risque (De Vuyst et al., 2008).

En ce qui concerne la distribution des génotypes, elle diffère chez les femmes infectées par le VIH, certains génotypes sont plus prévalant que chez les femmes non infectées par le VIH, ce sont essentiellement les HR-HPV autres que l'HPV 16 et 18, ce qui confirment qu'ils sont souvent mieux contrôlés par la réponse immunitaire chez les sujets sains [(Strickler et al., 2008) ; (Segondy, 2010) ; (Denis et Ardaens, 2011)].

3.2. Développement du cancer du col de l'utérus chez les femmes séropositives pour le VIH

Le cancer du col est la néoplasie la plus fréquente chez la femme infectée par le VIH. C'est un événement classant le sujet touché par le VIH dans la catégorie la plus sévère, correspondant au sida selon la classification du CDC (annexe 2) [(CDC, 1993) ; (Segondy, 2010) ; (Denis et Ardaens, 2011)].

La prévalence des néoplasies intraépithéliales cervicales est significativement plus élevée chez la femme séropositive. L'incidence des cancers du col de l'utérus serait de 6 à 8 fois plus élevée chez les femmes positives aux VIH que chez les séronégatives (Denis et Ardaens, 2011).

Cette forte incidence est liée d'une part, au risque accru d'être infectée par un HPV oncogène et à la persistance qui entraîne l'aggravation des lésions et d'autre part, aux altérations du système immunitaire liées au VIH entraînant la perte de la fonction cytotoxique dirigée contre les cellules cancéreuses ; ce qui augmente le risque de progression du cancer du col et entraîne une extension plus rapide de la maladie [(Strickler et al., 2003) ; (Einstein et Kadish, 2004) ; (Hawes et al., 2006)].

Il est plausible que la trithérapie antirétrovirale dirigée contre le VIH puisse restaurer la réponse immunitaire contre l'HPV, réduisant ainsi sa persistance et permettant de réduire la survenue de lésions précancéreuses ou de favoriser leur régression. Cependant, les études portées sur les effets du traitement antirétroviral sur la régression des lésions cytologiques sont contradictoires [(Louie et al., 2008) ; (Segondy., 2010)].

Le sur-risque important d'infections chroniques, de lésions précancéreuses et de cancer induits par les HPV chez les femmes infectées par le VIH implique d'accentuer la prévention du cancer du col chez cette population (Spano et al., 2005). Le gain à attendre de la vaccination anti-HPV est moindre chez les sujets infectés par le VIH car ils sont très souvent déjà infectés, voire poly-infectés par les HPV (Denis et Ardaens, 2011). Le dépistage reste le moyen préventif fondamental chez les femmes séropositives. Il nécessite un suivi très régulier selon le rythme suivant : un frottis annuel en l'absence de lésion cervicale et si l'état immunitaire est satisfaisant (taux de lymphocytes CD4 supérieur à 200 par mm³) ou un frottis bi-annuel associé à la colposcopie systématique en cas de frottis antérieur anormal, en cas d'infection connue à papillomavirus, après un traitement de lésions précancéreuses, ou si les lymphocytes CD4 sont inférieurs à 200 par mm³ (Fener et Criton, 2007).

Chapitre 4 : Les techniques de détection et d'identification de l'HPV

1. Utilisation de la biologie moléculaire pour la détection de l'HPV

Les HPV se caractérisent par leur spécificité cutanéomuqueuse qui fait qu'ils ne déterminent que rarement une réaction immunitaire suffisante pour donner lieu à un diagnostic sérologique fiable (**Sevestre et Boulanger, 2005**). De plus, cette réponse immunitaire ne permet pas de distinguer une infection actuelle d'une infection antérieure (**Stanly et al., 2010**). Leur cycle viral dépend de la différenciation épithéliale, ce qui rend leur isolement par culture cellulaire difficile à mettre en place (**Ollier et Giordanengo, 2008**). En microscopie électronique, les particules virales sont faciles à identifier mais cette technique est trop coûteuse et lente à mettre en œuvre pour être proposée en routine.

C'est pour cela que les chercheurs se sont tournés de façon prédominante vers les méthodes de biologie moléculaire pour la détection de ce virus (**Mougin et Dalstein, 2004**).

Pendant les années 1980, la détection de l'ADN des HPV était réalisée par la technique Southern blot qui constitue l'origine de toutes les autres méthodes de détection de l'HPV [(**Nuovo et Richart, 1989**) ; (**Carcopino et al., 2011**)]. Cette technique est fiable et spécifique mais lourde, fastidieuse et nécessite des quantités relativement importantes d'ADN viral. Elle a finalement été abandonnée en pratique quotidienne en raison de sa complexité (**Sevestre et Boulanger, 2005**). Sa version simplifiée et rapide, le Dot blot, s'est aussi rapidement avérée défectueuse en terme de sensibilité et de reproductibilité [(**Cuzick et al., 1999**) ; (**Mougin et al., 2011**)].

C'est pour ces raisons que ces techniques ont été progressivement remplacées, depuis les années 1990, par des tests plus sensibles, plus rapides et automatisables où des outils de biologie moléculaire, de plus en plus adaptés, se sont imposés pour le diagnostic des infections par HPV (**Mougin et Dalstein, 2004**).

2. Diversité des tests HPV actuels

Les tests de biologie moléculaire pour la détection de l'HPV actuels sont très nombreux et parfois complémentaires. Ils sont généralement réalisés à partir d'un prélèvement cervico-vaginal effectué au niveau de la zone de jonction endocol-exocol dans un milieu d'échantillonnage approprié à la préservation de l'intégrité des acides nucléiques ou à partir de biopsie. Ces tests diffèrent entre eux par la technologie utilisée, la nature du biomarqueur et de la cible moléculaire détectée, le système de révélation, le spectre d'HPV visé et le rendu du résultat qui peut être soit qualitatif ou quantitatif avec ou sans génotypage

[(Ollier et Giordanengo, 2008) ; (Mougin *et al.*, 2012) ; (Guenat *et al.*, 2016)]. Les détails de cette diversification sont décrits ci-dessous.

2.1. Diversité des tests HPV en fonction de la technologie utilisée

Actuellement, en pratique courante, ce sont la *polymerase chain reaction* (PCR) et l'hybridation en phase liquide qui constituent les principales technologies sur lesquels s'appuient les différents tests HPV. D'autres méthodes ont aussi été proposées telles que l'immunomarquage pour la détection de la protéine P16 ou les tests qui se basent sur l'amplification des ARNm.

2.1.1. Test utilisant la technologie de l'hybridation en phase liquide (amplification du signal)

La spécificité diagnostique de cette technique repose sur une étape d'hybridation en solution, c'est une immunocapture en phase liquide. Les tests utilisant la technologie de l'amplification du signal sont l'Hybrid capture 2 ou HC2 HPV DNA Test (Qiagene) et le CervistaTM HR HPV Test (Hologic) (Ollier et Giordanengo, 2008).

L'HC2 est réalisée entre l'ADN viral cible dénaturé et des sondes ARN complémentaires. Les hybrides ADN/ARN sont capturés sur microplaque et sont ensuite reconnus par des anticorps spécifiques. La révélation se fait par chimioluminescence permettant l'amplification du signal (le signal obtenu est amplifié au moins 3000 fois). L'intensité émise est mesurée par luminométrie et les résultats sont exprimés par picogrammes d'ADN viral par millilitre de prélèvement (pg/ml). Une mesure égale ou supérieure à la valeur du seuil critique indique la présence de séquences d'ADN HPV dans l'échantillon [(Sellors *et al.*, 2000) ; (Agius et Plouzeau, 2006)].

2.2.2. Test utilisant la PCR (*polymerase chain reaction*)

Il s'agit d'une technique d'amplification d'une séquence cible de l'ADN délimitée par deux amorces. Elle est toujours précédé d'une étape d'extraction d'ADN et a la particularité de nécessiter des quantités minimales d'ADN cible au départ. Elle est sensible, spécifique et automatisable. Différents systèmes d'amplification sont développés reposant sur l'utilisation de différents couples d'amorces : des amorces consensus ou des amorces spécifiques de types d'HPV (annexe 3) (Monsonogo, 2006).

La PCR est souvent suivie d'autres techniques complémentaires qui permettront la détection des produits de l'amplification (amplicons) soit par séquençage direct ou par hybridation à des sondes spécifiques sur un support fixe. D'autre part, une révélation de la

présence du fragment cible par fluorescence peut être réalisée en même temps que son amplification permettant de déterminer la charge virale, ce système est appelé la PCR en temps réel (PCR TR) ou PCR quantitative (qPCR) [(Ollier et Giordanengo, 2008) ; (Carcopino et al., 2011)]. Les méthodes qui se basent sur la PCR sont les suivantes :

a. Séquençage direct

Le principe du séquençage consiste à déterminer la séquence de l'ADN cible amplifié pour la comparer à l'ensemble des séquences génomiques disponibles dans la banque de données GenBank à l'aide du logiciel Blast (Altschul et al., 1997).

b. Hybridation sur bandelettes

Les produits amplifiés sont hybridés sur une bandelette sur laquelle des oligonucléotides spécifiques de différents génotypes d'HPV ont été préalablement fixés. Les hybrides amplicon - oligonucléotide sont révélés par réaction colorimétrique. La lecture s'effectue ensuite, par comparaison entre le profil d'hybridation obtenu et une plaquette où figurent les profils de tous les génotypes d'HPV. La localisation de la bande (ou des bandes) colorée(s) sur la bandelette permet de définir le génotype présent dans le prélèvement. Parmi ces techniques le test Linear Array Genotyping Test® (Roche Diagnostics) et le test INNO-LiPA HPV Genotyping Extra® (Innogenetics) (Ollier et Giordanengo, 2008).

c. Hybridation sur microplaque

Les amplicons dénaturés sont hybridés avec des sondes oligonucléotidiques fixés à des puits de détection. Les hybrides capturés dans les puits sont révélés par réaction colorimétrique. La technique Amplicor HPV Test® (Roche Diagnostics) utilise l'hybridation sur microplaque à l'aide d'un kit spécifique (Dalstein et al., 2007).

d. Détection par puce d'ADN

Les amplicons dénaturés sont hybridés avec des sondes oligonucléotidiques fixées sous forme de spots sur divers supports (lame en verre ou en plastique, fond de tube tronqué) de tailles différentes (macro- ou micro-arrays). La révélation peut être soit colorimétrique soit fluorimétrique selon le marquage des amorces utilisées pour la PCR (respectivement biotine ou fluorochrome), et la lecture est automatisée [(Dutra et al., 2008) ; (Szarewski et al., 2008)].

Comme exemple de kit de puce à ADN, il y a le kit PapilloCheck® (Greiner Bio One) et le kit de Clart® HPV2 (Genomica).

e. Détection par cytométrie en flux (Luminex®)

Cette technologie permet la détection de réactions multiples dans un même tube. Ce système multi-analytique est constitué d'un cytomètre de flux à 2 lasers et d'un ensemble de microsphères.

Après amplification avec des amorces fluorescentes (PCR de genre), l'ADN amplifié est dénaturé puis hybridé sur les microsphères recouvertes chacune d'un oligonucléotide spécifique d'un génotype d'HPV. Chaque type de microsphères est coloré et marqué avec des fluorophores spécifiques de chaque génotype d'HPV et l'amplicon est lui aussi marqué par un fluorophore. L'analyse est réalisée par cytométrie de flux à deux lasers, un laser détecte le fluorophore témoin de la présence d'un amplicon HPV, l'autre laser détecte la couleur de la microsphère et donc le génotype HPV. Un test de génotypage par la technologie Luminex® est commercialisé : HPV Genotyping LQ (Digene®) [(Ollier et Giordanengo, 2008) ; (Eide et Debaque, 2012)].

f. PCR en temps réel (PCR TR) ou PCR quantitative (qPCR)

Cette technique repose sur le principe de l'amplification de l'ADN cible simultanément à la détection des amplicons avec un agent intercalant de type SYBR Green ou d'une sonde oligonucléotidique spécifique par mesure de la fluorescence émise à chaque cycle de PCR. Elle permet entre autres la quantification précise du nombre de copies d'HPV grâce à l'utilisation de standards internes (gamme étalon) comportant un nombre de copie connu. Cobas 4800 HPV® (Roche Diagnostics) est un test multiplex basé sur la technologie de PCR en temps réel (Prétet et al., 2004).

2.2.3. Hybridation *in situ*

Elle ne nécessite pas d'extraction d'ADN préalable. Il s'agit d'une technique *in vivo* effectuée directement sur des suspensions cellulaires ou sur des coupes histologiques ; Elle permet à la fois de localiser précisément au microscope les génomes d'HPV (l'hybridation moléculaire) dans les lésions mais aussi de renseigner sur l'état physique du génome selon la morphologie du marquage: un aspect ponctué en grains d'hybridation évoque une intégration de l'ADN d'HPV, alors qu'un aspect homogène diffus du marquage serait plutôt en faveur d'une forme épisomale de l'ADN viral [(Chevalier, 1997) ; (ANAES, 2004)].

Cette méthode est intéressante pour comprendre la pathogénèse virale. Cependant, ses performances sont limitées (faible sensibilité analytique) pour son utilisation en pratique clinique dans le cadre du dépistage [(Cuzick, 1999) ; (ANAES, 2004)].

2.2.4. Amplification des ARNm E6 et E7 par transcription

Après extraction des ARN viraux et cellulaires, l'ARNm E6 et E7 sont amplifiés en utilisant la technique d'amplification des ARNm NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Assay) ou TMA (Transcription Mediated Amplification), les ARNm sont rétrotranscrits en ADN par la transcriptase inverse, l'ARN polymérase transcrit ensuite une centaine de copies d'ARN à partir d'une copie d'ADN, réalisant une amplification isotherme des ARNm. La détection de ces ARNm se fait par hybridation avec des sondes oligonucléotidiques fluorescentes spécifiques ou marquées avec un détecteur moléculaire émettant un signal chimioluminescent. Parmi les techniques permettant le dosage des ARNm E6/E7 le test NucliSENS Easy Q® HPV (Biomérieux) et le test Aptima® HPV Assay (GenProbe) [(Ollier et Giordanengo, 2008) ; (Burger *et al.*, 2010)].

2.2.5. Immunomarquage pour la détection de la protéine p16

La p16 est une protéine cellulaire nettement surexprimée dans la cellule dysplasique en raison de l'activité transformante d'E7 par inhibition de la pRB. Il est donc possible d'utiliser des méthodes de marquage immunochimique de la p16 en histologie ou en cytologie pour augmenter la performance du diagnostic ou du dépistage (Monsonogo, 2006). Le test CINtec™ P16^{INK4a} est un kit commercialisé permettant de révéler visuellement par immunocyto ou immuno-histochimie la présence d'une surexpression de la p16 (Dachez, 2008).

2.2. Diversité des tests HPV en fonction du spectre de détection des HPV

Les spectres des HPV à détecter correspondent aux HPV à haut risque, à bas risque ou les deux. Certains tests permettent uniquement la détection d'une sélection d'HPV sans identifier le génotype, d'autres permettent le génotypage partiel (HPV 16 et 18 en particulier) ou le génotypage complet (Mougin *et al.*, 2011).

Ainsi, l'Hybrid Capture 2 (hybridation en phase liquide avec amplification du signal) et l'Amplacor® HPV (hybridation sur microplaque après PCR) permettent la détection de l'ADN de 13 types d'HR-HPV sans en permettre le génotypage.

Le test Cervista™ HPV HR (hybridation en phase liquide avec amplification du signal) permet la détection de 14 types d'HR-HPV, tout comme le Cobas 4800 HPV Test (PCR en temps réel) mais ce dernier permet également d'identifier spécifiquement les femmes infectées par HPV 16 et HPV 18 [(Carcopino *et al.*, 2006) ; (Torres *et al.*, 2012)].

L'INNO-LiPA, le Linear Array HPV genotyping (tests utilisant l'hybridation inverse après PCR) et le PapilloCheck HPV-Screening Test (test utilisant l'identification par puces à

ADN après PCR), sont des techniques qui permettent successivement le génotypage complet de 28 génotypes, 37 génotypes et 25 génotypes d'HPV. Ces tests utilisant la PCR doivent répondre à deux contraintes : la séquence d'ADN à amplifier doit être suffisamment conservée à ces 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 (Ollier et Giordanengo, 2008).

2.3. Diversité des tests HPV en fonction de la quantification virale

Certaines techniques permettent de mesurer la charge virale de l'HPV, cette dernière est évaluée de plusieurs manières. Ainsi, la PCR en temps réel permet une quantification précise qui correspond au nombre de copie par volume d'échantillon ou par nombre de cellules cervicales.

D'autres tests, permettent une évaluation semi-quantitative, tels que l'HC2 où la charge virale est évaluée par mesure de la luminescence exprimée en RLU. L'HC2 permet une évaluation fiable avec un bon niveau de corrélation. Cependant, en ne faisant pas la distinction entre les différents types d'HPV, l'HC2 rapporte une charge virale globale.

Certains tests comme le Cobas 4800 permettent une quantification précise par qPCR pour l'HPV 16 et l'HPV 18 mais globale pour les autres HR-HPV en une seule réaction permettant une économie de temps, d'échantillon et de réactifs (Jaquin *et al.*, 2013).

Il a été développé aussi une PCR quantitative qui a pour objectif d'évaluer la quantité d'ADN viral intégré, cette qPCR ciblant les gènes E6 et E2 permet le calcul de ratio E2/E6 pour évaluer l'inactivation de E2 et la surexpression du génome viral intégré (Khouadri *et al.*, 2007).

2.4. Diversité des tests HPV en fonction du biomarqueur et de la cible moléculaire

Les techniques de détection de l'HPV ciblent plusieurs marqueurs biologiques; l'ADN génomique est la cible la plus utilisée car les ARNm sont plus fragiles.

La région L1 constitue une région très conservée du génome HPV. De ce fait, elle constitue la cible moléculaire la plus utilisée, essentiellement dans les techniques qui se basent sur la PCR. Les 3 couples d'amorces les plus couramment utilisées sont PGMY09/11, GP5+/6+ et SPF10 (annexe 3) [(Eklund *et al.*, 2010) ; (Mougin *et al.*, 2012)].

Comme les protéines E6 et E7 sont responsables de la carcinogénèse liée aux HPV à haut risque, certaines test HPV visent la détection de ces molécules et reposent souvent sur la détection des ARNm E6 et E7 (Ollier et Giordanengo, 2008). La détection des ARNm E6 et

E7 pourrait être un pronostic d'une infection progressive que la simple présence de l'ADN de l'HPV [(Clavel *et al.*, 2007) ; (Arbyn *et al.*, 2008)].

L'intégration du génome des HPV dans celui de la cellule hôte, entraînant l'inactivation de E2 et la sur-expression de E6 et E7, est une étape cruciale propre aux HR-HPV d'où le développement d'un test visant la quantification des gènes E6 et E2 et l'évaluation de la quantité d'ADN viral intégré (Khouadri *et al.*, 2007).

Un des biomarqueurs cibles est aussi la P16^{INK4a} dont l'expression est accrue secondairement à l'inactivation de la pRb par la protéine E7 des HPV oncogènes [(SI-Mohammed, 2010) ; (Ronco, 2010)].

2.5. Diversité des tests HPV en fonction de la méthode de révélation

Les tests HPV s'appuient en général sur l'hybridation entre la molécule cible et une sonde nucléique spécifique. La réaction d'hybridation, est révélée via des réactions autoradiographiques ou de plus en plus souvent immuno-enzymatiques avec une détection colorimétrique, fluorescente ou encore par chimioluminescence (Monsonogo, 2006).

Comme il est démontré dans le tableau 1.5, les méthodes de révélation sont très diverses d'un test à l'autre, elles dépendent du produit utilisé lors du marquage de la sonde ou de l'amorce. La majorité des méthodes qui reposent sur la PCR révèlent les hybrides amplicons-oligonucléotides grâce aux amorces marquées à des fluorophores ou à la biotine qui encadrent l'amplicon [(Ollier et Giordanengo, 2008) ; (Mougin *et al.*, 2011)].

Dans l'hybridation *in situ*, les sondes sont visualisées sous lumière ultraviolette (UV), on parle de hybridation *in situ* fluorescente ou FISH (fluorescent *in situ* hybridization) ou localisées à l'aide d'anticorps dirigés contre le marqueur chimique et visualisées à l'aide de la lumière directe (hybridation chromogénique *in situ* ou CISH (chromogenic *in situ* hybridization) (Uhlig *et al.*, 2013).

3. Application du test HPV

Les méthodes de détection de l'HPV sont différentes et nombreuses. Cependant il n'existe pas de technique « *Gold standard* » ; Certains tests visent à optimiser les paramètres cliniques pour un emploi approprié dans le cadre du dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus. D'autres, calibrés généralement pour une grande sensibilité, une charge virale et un diagnostic génotypique précis, sont adaptées à la réalisation d'enquêtes épidémiologiques et à la recherche scientifique [(Carcopino *et al.*, 2011) (Mougin *et al.*, 2011)].

Tableau I.5 : différents tests HPV et leur principales caractéristiques

Nom du test (Fabriquant)	Technologie	Révélation	Cible moléculaire	HPV détectés	Génotypage	quantification
Hybrid Capture 2® (Qiagen)	Hybridation en phase liquide avec amplification du signale	chimiluminescente	Génome entier	13 HPV HR (1)	non	Semi quantitatif
careHPV Test (QIAGEN)	Hybridation en phase liquide avec amplification du signale	chimiluminescente	Génome entier	13 HPV HR et HPV66	non	non
Cervista™ HR HPV Test (Hologic)	Hybridation en phase liquide avec amplification du signale	fluorescente	L1	13 HPV-HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)	non
INNO-LiPA Genotyping Extra® (Innogenetics)	PCR (amorces SPF 10) + hybridation sur bandelette	colorimétrique	L1	13 HPV-HR et 15 HPV BR	oui	non
Linear Array Genotyping Test® (Roche Diagnostics)	PCR (amorces PGMY09/11) + hybridation sur bandelette	colorimétrique	L1	13 HPV-HR et 24 HPV BR	oui	non
Amplicor HPV Test ® (Roche Diagnostics)	PCR (amorces PGMY09/11) + hybridation sur microplaque	colorimétrique	L1	13 HPV-HR	non	non
Clart® HPV2 (Genomica)	PCR + détection par puce d'ADN	Colorimétrique	L1	13 HPV-HR et 22 HPV BR	oui	non
PapilloCheck® (Greiner)	PCR + détection par puce d'ADN	fluorescente	E1	13 HPV HR et 11 HPV BR	oui	non
Digene HPV Genotyping LQ Test® (Qiagen)	PCR+ Détection par cytométrie en flux	fluorescente	L1	13 HPV-HR et HPV 26, 53, 66, 73, 82	oui	non
Cobas HPV Test (Roche)	PCR en temps réel	fluorescente	L1	13 HPV-HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)	Quantification partielle
RT PCR HPV test (Abbott)	PCR en temps réel	fluorescente	L1	13 HPV-HR et HPV66	partiel (HPV16 et 18)	Quantification partielle
Aptima® HPV Assay (GenProbe)	TMA	chimiluminescente	ARNm E6/E7	13 HPV-HR et HPV66	non	Non
HPV BD Onclarity® (BD Diagnostics)	RT-PCR + SDA (Strand displacement amplification)	fluorescence	AND E6/E7	14 HR-HPV	Oui	Non
Anyplex®II HPV 28 (Seegene)	RT-PCR	Fluorescence	L1	19 HR-HPV et 9 LR-HPV	Oui	Oui

Chapitre 5 : Situation et épidémiologie

1. Situation et données épidémiologiques du cancer du col utérin

1.1. Situation dans le monde

A l'échelle mondiale, le cancer du col de l'utérus constitue le quatrième cancer féminin et le huitième au classement général. En 2018, environ 569.847 nouveaux cas ont été diagnostiqués et 311.365 femmes sont décédées de ce cancer (Ferlay et al., 2019). Plus de 85% des décès ont survécu dans les régions les moins développées (Hussain et al., 2016).

L'incidence standardisée de ce cancer est de 13,1 pour 100 000 femmes, elle varie de 4,1 à 43,1 pour 100 000 (figure I.8) au bénéfice des pays industrialisés où ce cancer ne représente que 0,96% des cancers touchant les femmes alors que dans les pays les moins développés cette proportion est de 21,3% (Bray et al., 2018).

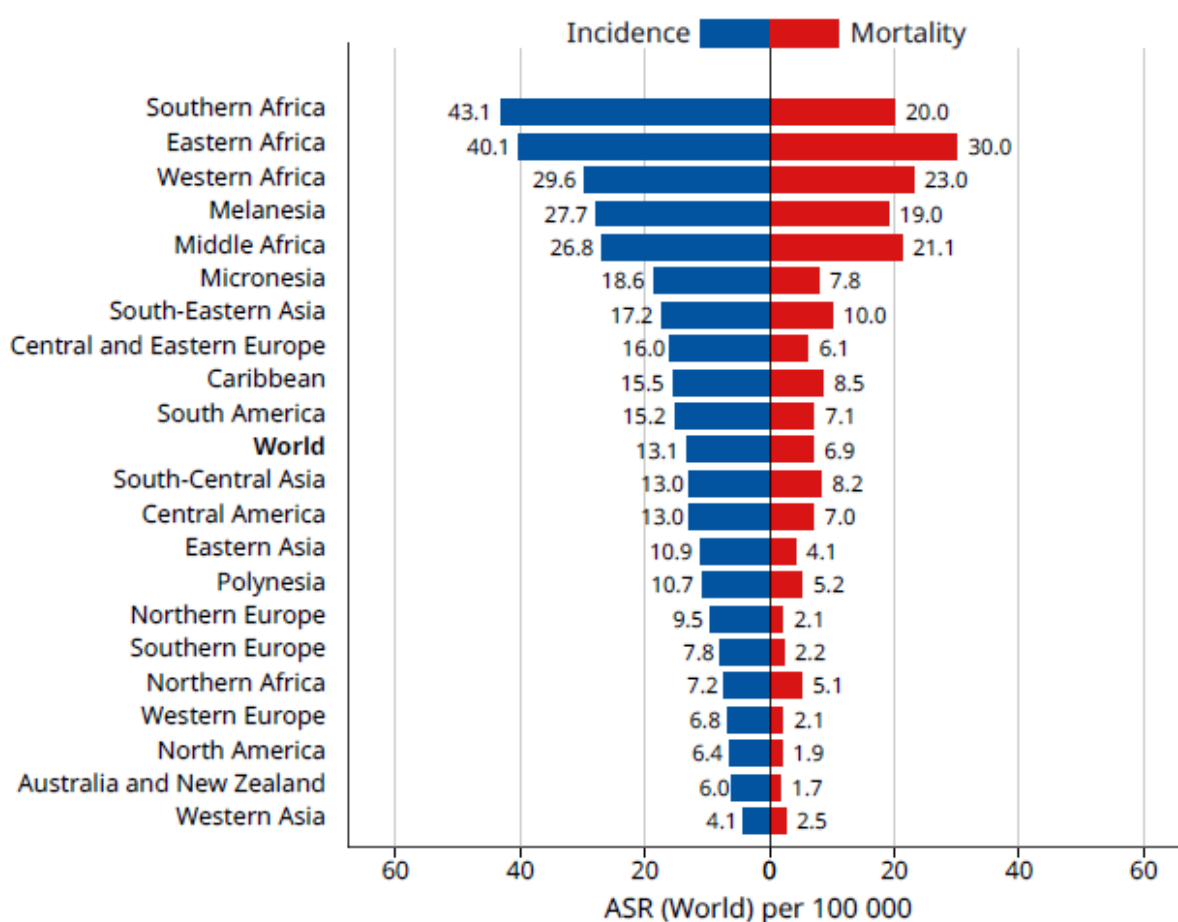


Figure I.8 : taux d'incidence et de mortalité par le cancer du col de l'utérus dans différentes régions du monde

(Bray et al., 2018)

L'inégalité de répartition de ces proportions d'une région à l'autre est due à la mise en place de stratégie de dépistage et de prise en charge thérapeutique efficace dans les pays développés ce qui est à l'origine de la réduction de l'incidence et de la mortalité (**Duport, 2008**).

Les taux d'incidence et de mortalité, liés à ce cancer, estimés pour l'Afrique du Nord correspondent successivement à 7,2 et 5,1 pour 100 000 femmes. La figure I.9 résume les taux d'incidence et de mortalité dans les pays de cette région et qui varient successivement de 2,3 et 1,5 pour 100 000 femmes en Egypte à 17,2 et 12,6 pour 100 000 femmes au Maroc (**Bray et al., 2018**).

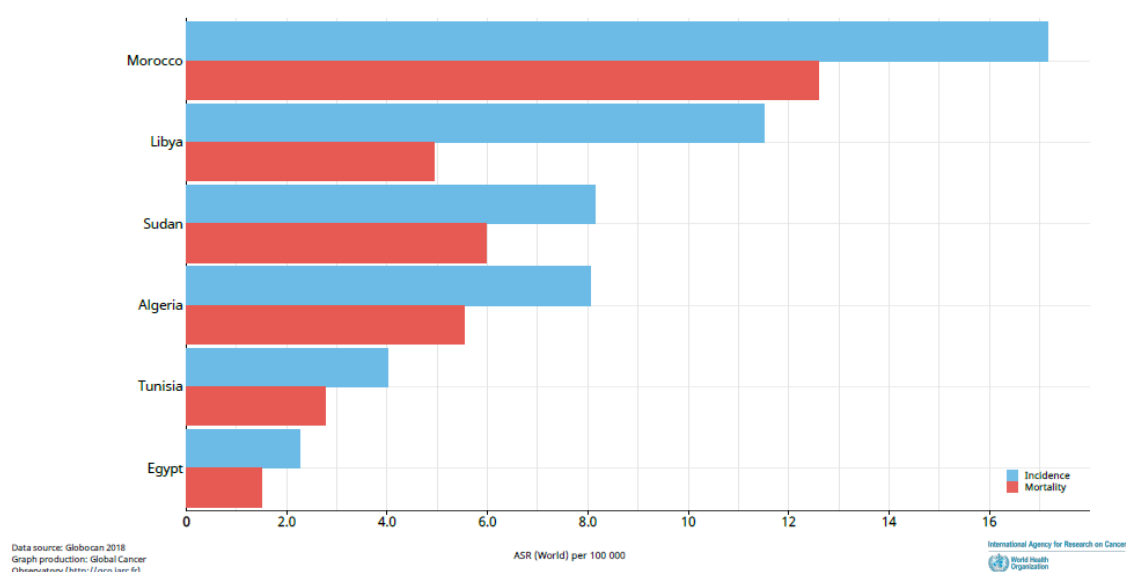


Figure I.9 : Incidence et mortalité par le cancer du col de l'utérus dans les pays de l'Afrique du nord (**Bray et al., 2018**)

1.2. Situation en Algérie

Le cancer du col de l'utérus, qui a constitué pendant longtemps le deuxième cancer féminin en Algérie, est actuellement le quatrième cancer chez la femme en termes fréquence (5,5% des cancers féminins) et le troisième en termes de mortalité (8% des cancers féminins). Son incidence est passée de 21,3 pour 100 000 en 2005 (**Hammouda et al., 2005**) à 15 pour 100 000 en 2007 (**Castellsagué et al., 2007**), 10,4 pour 100 000 en 2008 (**Globocan, 2008**), 8,7 pour 100 000 en 2010 (**INSP, 2010**), 8,5 pour 100 000 femmes en 2012 (**Hussain et al., 2016**) et récemment à 8,1 pour 100 000.

Ce taux d'incidence estimés pour l'année 2018 correspond à 1594 nouveaux cas, quant au taux de mortalité, il est estimé à 5,5 pour 100 000 femmes et correspondant à 1066 décès (**Bray et al., 2018**).

La diminution du taux d'incidence peut être liée au dépistage organisé qui est recommandé par le ministère Algérien depuis 2001. Cette action a été évaluée de manière objective en 2014 où il a été constaté que les résultats ne sont pas à la hauteur des objectifs fixés, ceci devraient être corrigés par une couverture plus adéquate du dépistage par cytologie, et par l'introduction de nouvelles techniques de dépistage plus modernes mondialement reconnues tel que le test HPV (**Plan National Cancer, 2014**).

2. Prévalence de l'HPV dans le cancer du col utérin

2.1. Dans le monde

Les papillomavirus humains sont largement répandus dans la population avec une prévalence mondiale estimée à 11,7% (**Bruni et al., 2010**). Ils sont impliqués dans 32,5% des cancers et dans presque 100% des cancers du col utérin (**Ferlay et al., 2010**).

L'HPV 16 et l'HPV 18 sont responsables d'environ 70% des cancers du col, ce sont les deux types les plus impliqués dans ce cancer à travers toutes les régions du monde. En revanche, la proportion des types d'HPV à haut risque autres que l'HPV 16 et 18 est variable en fonction de la zone géographique concernée (**Munoz et al., 2003**).

D'après de Sanjosé et *al.*, les HPVs les plus souvent retrouvés après l'HPV 16 et 18 sont principalement les types 31, 33, 35, 45, 52 et 58 (**2010**).

2.2. En Algérie

Peu de données existent sur les caractéristiques épidémiologiques et virologiques des lésions précancéreuses et des cancers du col de l'utérus en Afrique du nord, plus particulièrement en Algérie [(**Hammouda et al., 2005**) ; (**Hussein et al., 2016**)]. Des études épidémiologiques concernant cette approche devraient permettre de mieux appréhender l'étiologie de ces cancers et peuvent ainsi avoir des implications importantes dans le domaine de prévention, de dépistage, de diagnostic et du traitement du cancer.

Comme les études portant sur l'HPV et son association aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col en Algérie ne sont pas nombreuses, nous avons tenté de les décrire dans le tableau I.6.

En ce qui concerne la prédominance des HPV 16 et 18 au sein de la population de femmes algériennes, ces études s'accordent et démontrent que ces deux types, responsables de la majorité des cancers du col utérin dans le monde, sont les plus répandus aussi dans des séries de cancers du col de l'utérus étudiées en Algérie [(**Hammouda et al., 2005 ; 2011**) ; (**Khenchouche et al., 2013**) ; (**Nahet et al., 2016**) ; (**Serour et al., 2017**)].

Cependant, il existe certaines différences dans la prévalence de l'HPV entre ces études qui peuvent être dues au choix de la population, au contexte de l'étude, à la nature du prélèvement (biopsie ou FCU), au test HPV utilisé...

Tableau 1.6 : Récapitulatif des études portant sur l'HPV et son association aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus

Auteur, Date	Intitulé	Population étudiée	Teste utilisé	Prévalence HPV
Hammouda et al., 2005	Cervical Carcinoma in Algiers, Algeria HPV and lifestyle Risk Factor	192 CCs 202 témoins Alger	PCR + EIA	HPV : 97,7% des CCs 12,4% témoins HPV 16 : 61,4% des cancers 7,6% témoins
Sadouki et al., 2008	Génotypage du papillomavirus humain en Algérie chez des patientes prises en charge dans un service de chirurgie.	49 biopsies de CCs Alger	Amplicor + INNOLIPA HPV Genotyping	HPV : 95.7% des CCs HPV 16 : 62%
Sadouki et al., 2010	Détection des papillomavirus a haut risque dans les lésions précancéreuses du col en Algérie; état des lieux et perspective	741 FCU anormaux Alger	Amplicor + HC2	HR HPV : 12,3 par Amplicor 13,2 par HC2
Hammouda et al., 2011	HPV infection in a population-based sample of women in Algiers, Algeria	759 FCU à Alger	PCR + Hybridation inverse	HPV : 6,3% HR HPV: 4%
Khenchouche et al., 2013	HPV and EBV coinfection in cervical carcinoma in Algerian women.	58 biopsies de CC 21 HSIL 16 LSIL 14 normaux à Alger	Hybrid Capture	HR HPV: 88% des CCs 0,5% des HSIL 75% des LSIL 14% des normaux
Boublenza, 2014	Le cancer du col de l'utérus. Epidémiologie, dépistage et apport du test Papillomavirus Humain dans une population de l'Ouest Algérien	197 FCU à Tlemcen	Amplicor Cobas 4800 PCR + séquençage	HPV : 21,8%
Nahet et al., 2016	Le génotypage d'ADN d'HPV : une étude de cancer Ano-génitaux, VADS et cutanés dans la population de l'ouest algérien.	22 CCs parmi 109 cancers de localisations différentes	INNOLIPA HPV Genotyping	HPV : 100% des CCs HPV 16 : 52% HPV18 : 12%
Serour et al., 2017	Teste HPV par HC dans le diagnostic de l'infection APV-HR persistante.	300 femmes à Sidi Belabbès).	Hybrid Capture	HR HPV : 7,33%

CC : cancer du col utérin ; EIA : enzyme immunoassay ; HSIL : lésion précancéreuse de haut grade ; LSIL : lésion précancéreuse de bas grade

3. Données épidémiologiques du VIH et de son association avec le cancer du col de l'utérus

3.1. Données épidémiologiques de l'infection à VIH

3.1.1. Situation dans le monde

En 2017, 36,9 millions de personnes vivaient avec le VIH dont 59% avaient accès à la thérapie antirétrovirale, 1,8 millions de personnes sont devenues nouvellement infectées par le VIH, c'est le chiffre le plus bas depuis le début de l'épidémie. Le nombre de décès liés au SIDA est aussi en diminution régulière, il est estimé à 940 000 en 2017 ce qui représente une baisse de 45% par rapport au pic de 2,1 millions en 2005, en grande partie à la suite d'un meilleur accès au traitement antirétroviral (**ONUSIDA, 2018**).

L'Afrique subsaharienne reste l'une des régions les plus gravement touchées avec près d'un adulte sur 20 (4,9 %) vivant avec le VIH, ce qui représente 69 % des personnes vivant avec le VIH dans le monde.

Avec une prévalence estimée à 0,2 %, la région du Moyen Orient et de l'Afrique du Nord (dont relève l'Algérie) demeure l'une des régions les moins touchées par le VIH (**DGPPS, 2013**).

3.1.2. Situation en Algérie

La situation épidémiologique du VIH en Algérie se caractérise par une épidémie de type peu active, avec une faible prévalence de moins de 0,1% au sein de la population, en général (**OMS, 2016**), mais concentrée dans certains groupes de population les plus exposés au risque (5.5% chez les professionnelles du sexe et 4.5% chez les consommateurs de drogues injectables) (**CNPLS, 2017**).

Selon les bilans annuels du Laboratoire National de Référence VIH/sida de l'Institut Pasteur d'Algérie (LNR), depuis 1985 (date de déclaration du premier cas de sida en Algérie) au 31 Mars 2019, un total cumulé de 12634 cas d'infections à VIH ont été diagnostiqués dont 1911 cas de sida et 10723 cas de séropositifs (annexe 4) (**2019**). Le nombre de nouveaux cas d'infections à VIH augmente régulièrement à raison de 700 à 800 cas par an (**ONUSIDA, 2014**). Les cas d'infection VIH ont été déclarés dans les 48 wilayas du pays, aucune wilaya n'étant épargnée (**CNPLS, 2017**). Le mode de transmission n'a pas varié au fil des ans : la transmission hétérosexuelle (> 90 %), essentiellement locale, reste la principale voie par laquelle les personnes contractent le VIH (**CNPLS, 2017**).

En Algérie, les Centres De Référence pour la prise en charge de l'infection à VIH (CDR), au nombre de quinze à travers le pays permettent un dépistage et un traitement gratuits. Toutes les personnes vivants avec le VIH ont accès au traitement antirétroviral indépendamment du taux de CD4 [(OMS, 2016) ; (CNPLS, 2017)].

3.2. Le VIH et son association au cancer du col de l'utérus

En 1993, le cancer invasif du col a été ajouté à la liste des cancers (sarcome de Kaposi et lymphomes non-hodghiniens) définis comme faisant entrer la femme infestée par le VIH au stade SIDA (CDC, 1993).

À partir de données d'incidence, différentes analyses ont permis une estimation du risque de présenter un cancer invasif du col utérin chez les femmes VIH-positives qui était 6 fois plus élevé chez ces femmes par rapport à la population générale (Grulich et al., 2007).

La force de l'association mesurée entre ce cancer et l'infection à VIH était donc nettement moins élevée que celle rapportée pour les sarcomes de Kaposi et les lymphomes non Hodgkiniens. Néanmoins, elle restait conséquente si l'on pense qu'il s'agit là de la survenue d'une maladie sévère associée à une forte mortalité.

Les infections à HPV sont aussi plus fréquentes et ont tendance à persister plus longtemps chez les femmes VIH-positives. La charge virale HPV est aussi plus élevée chez ces femmes [(Heard et al., 2000) ; (Ezechi et al., 2014)].

Partie Expérimentale

Chapitre 1 : Caractéristiques de l'infection à HPV et des lésions cervicales chez des femmes infectées et non par le VIH-1 dans l'ouest algérien

Chapitre 2 : Apport du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin chez des femmes algériennes

Chapitre 3 : comparaison de trois techniques de détection du papillomavirus humain : le test INNO LiPA HPV Genotyping®, le Test cobas 4800® HPV et le test AmpliCor® HPV HR iologie

Chapitre 1 : Caractéristiques de l'infection à HPV et des lésions cervicales chez des femmes infectées et non infectées par le VIH-1 dans l'ouest algérien

1. Objectif de l'étude

Très peu d'études portant sur le cancer du col et son lien avec l'HPV ont été réalisées en Algérie et l'impact d'une possible co-infection par VIH n'a pas été abordé. C'est dans ce contexte que ce travail est réalisé et que l'infection à HPV a été caractérisée chez des femmes infectées ou non infectées par le VIH dans l'Ouest algérien.

Les objectifs principaux de cette étude sont les suivants :

- Etudier la répartition des différents génotypes des HPV impliqués dans les infections anogénitales chez les femmes dans l'ouest Algérie ;
- Définir les caractéristiques de cette infection : le taux des HPV selon leur potentiel oncogénique et la multiplicité des génotypes dans un seul prélèvement ;
- Etudier l'association de l'infection à HPV à la présence d'anomalies cytologiques ;
- Déterminer les facteurs associés à la présence de l'infection HPV et au développement des anomalies cytologiques parmi la population étudiée.

2. Méthodologie

2.1. Echantillonnage

Un total de 123 prélèvements cervico-vaginaux était récolté pour cette étude : 91 appartenaient à des patientes recrutées dans des cabinets médicaux de gynécologie et d'anatomopathologie privés de la Wilaya de Tlemcen et 32 à des patientes séropositives pour le VIH-1, recrutées au centre de référence des IST/VIH/SIDA de l'Ouest algérien - Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) d'Oran .

Les patientes ont bénéficié du bilan suivant :

- Un interrogatoire permettant de déterminer le statut social et certaines habitudes comportementales (annexe 5),
- Un frottis cervical sur lame pour l'étude cytologique,
- Un prélèvement cervical, pour la détection et le typage viral, réalisé à l'aide d'une cytobrosse sur milieu liquide ThinPrep (Hologic, Villepinte, France): une solution conservatrice permettant le respect de l'intégrité des acides nucléiques viraux.

2.2. Critères d'exclusions et d'inclusion

2.2.1. Critère d'exclusion

Etait exclu de cette étude tout échantillon appartenant à une patiente dont le dossier est incomplet: le résultat de la lecture cytologique ou le questionnaire n'ont pas été présentés. 28 dossiers appartenant aux patientes de la population générale étaient incomplets et donc exclus de l'étude.

2.2.2. Critère d'inclusion

Etait inclus dans l'étude tout échantillon n'ayant pas présenté un des critères d'exclusion. Ainsi, un total de 95 échantillons a été inclus dans cette étude : 63 des patientes de la population générale et 32 patientes de la population infectées par VIH.

2.3. Etude cytologique

La lecture cytologique des prélèvements sur lame, appartenant aux patientes séropositives, était effectuée au service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique du CHU d'Oran et celle des patientes séronégatives dans des laboratoires d'anatomo-pathologie privés de Tlemcen. Les résultats ont été interprétés selon la classification de Bethesda (annexe 1).

2.4. Détection et génotypage de l'HPV

Le génotypage des HPV était réalisé au laboratoire de Virologie à l'Unité de l'INSERM 1058- Université de Montpellier

2.4.1. Extraction de l'ADN

L'ADN était extrait à l'aide de l'automate d'extraction NucliSENS® easyMAG® (Biomérieux, Craponne, France). En utilisant un kit d'extraction d'acides nucléiques et un protocole dédiés, 250 µL de chaque échantillon est additionné à 500 µL de tampon de lyse, le volume de 750 µL de ce mélange est ensuite prélevé dans les micro-tubes spécifiques placés dans l'automate d'extraction d'ADN. chaque prélèvement est lysés et tous les acides nucléiques sont capturés par les particules de silice magnétiques ; des étapes de lavage et de chauffage permettront ensuite de libérer les acides nucléiques de la silice qui seront enfin séparés de l'éluât par le système d'aimantation (**Boom et al., 1990**).

2.4.2. Le test INNO-LiPA HPV Genotyping Extra® (Innogenetics)

L'INNO-LiPA HPV Genotyping Extra est basé sur le principe de l'hybridation inverse. A l'aide de la trousse INNO-LiPA HPV Genotyping Extra® (Fujirebio, Courtaboeuf, France). Ce test vise d'abord à amplifier un fragment de 65 pb de la région L1 du génome de l'HPV en utilisant les amorces SPF10 biotinylées et à révéler par la suite les produits amplifiés suivant des étapes réalisées sur l'automate Auto-LiPA 48® (annexe 6) : Les amplicons biotinylés obtenus sont dénaturés et hybridés à des sondes oligonucléotidiques spécifiques qui sont immobilisées en lignes parallèles sur bandelettes. Après hybridation et lavage stringent, la streptavidine marquée à la phosphatase alcaline est ajoutée pour se fixer aux hybrides biotinylés précédemment formés. Ensuite, l'incubation avec un chromogène BCIP/NBT entraîne la formation d'un précipité violet et les résultats peuvent être interprétés visuellement ou à l'aide du logiciel LiRAS® pour LIPA HPV. Ce test permet la détection spécifique de 28 types d'HPV, soit les types 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 71, 73 et 74, 82 y compris des combinaisons multiples (Kleter *et al.*, 1998 ; 1999).

2.5. Analyse statistique

L'analyse des données était réalisée au niveau du service d'épidémiologie du CHU Tlemcen, elle est basée sur l'utilisation du logiciel IBM SPSS Statistics version 21. Le test de Chi² et l'odds ratio (OR), avec intervalle de confiance 95% (IC 95%), étaient utilisés pour évaluer l'association entre plusieurs paramètres : infection à HPV ; séropositivité au VIH ; anomalie cytologique ; facteurs de risque.... Le Microsoft Excel 2007 était aussi utilisé pour le traitement de données et le calcul de quelques paramètres.

3. Résultats

3.1. Caractéristiques de la population étudiée

Le tableau II.1 résume les données obtenues à travers l'interrogatoire. La moyenne d'âge de ces patientes était de 40,8 ans et l'âge moyen lors du premier rapport sexuel était de 20,3 ans. La majorité de ces femmes étaient mariées et avaient un seul partenaire, ont eu plus de 3 grossesses, n'ont jamais avorté, ne fumaient pas, avaient un aspect de col anormal (aspect inflammatoire, hémorragique, ulcéré...) et ont fait le frottis cervical pour la première fois ; environ 50% d'entre-elles utilisaient une contraception orale et 33% étaient infectées par le VIH.

Tableau II.1 : caractéristiques sociodémographiques et habitudes comportementales de la population étudiée

Caractéristiques	
Age	N = 95
Age moyen (extrêmes)	40,8 (23-80)
Age moyen (extrêmes) lors du premier rapport sexuel	20,3 (10-40)
Statut marital	N = 95
Mariée	74 (77,9)
Divorcée	6 (6,3)
Veuve	9 (9,5)
Célibataire	6 (6,3)
Nombre de partenaire	N = 88
Un seul	78 (88,6)
≥ 2 partenaires	10 (11,4)
Polygamie du partenaire	N = 88
Oui	18 (20,5)
Non	60 (68,2)
Ne sait pas	10 (11,4)
Nombre de gestation	N = 95
0	7 (7,4)
1-3	40 (42,1)
> 3	48 (50,5)
Antécédent interruption de grossesse	N = 95
Oui	35 (36,8)
Non	60 (63,2)
Contraception orale	N = 95
Orale	48 (50,5)
Autre	47 (49,5)
Frottis cervical	N = 95
1 ^{er} FCV	78 (82,1)
FCV de contrôle	17 (17,9)
Aspect du col	N = 95
Normal	34 (35,8)
Anormal	61 (64,2)
Tabagisme	N = 95
Oui	3 (3,2)
Non	92 (96,8)
Séropositivité VIH-	N = 95
Négatif	63 (66,3)
Positif	32 (33,7%)

3.2. Taux des anomalies cytologiques parmi toute la population étudiée

Les résultats de l'examen cytologique montraient une absence d'anomalies cytologiques chez 81,1% (77/95) des femmes étudiées. Les anomalies cytologiques retrouvées chez 18,9% de ces femmes étaient : 4 (4,2%) ASC-US, 11 (11,6%) lésions de bas grade (LSIL) et 3 (3,2%) lésions de haut grade (HSIL).

3.3. Taux de l'infection à HPV parmi toute la population étudiée

Le taux de l'HPV était de 60,0% (57/95), celui des HR-HPV était de 51,6% (49/95), représentant 86,0% (49/57) de la totalité des infections à HPV. Parmi les 20 types d'HPV identifiés, les plus fréquents étaient HPV16 (23,2%) ; HPV18 (13,7%) ; HPV53 (7,4%) ; HPV39 (6,3%) ; HPV35 et HPV 52 (5,3%) ; (Figure II.1). Les infections à HPV multiples (2 à 4 types) représentaient 36,8% (21/57) des infections HPV (figure II.2). La présence d'au moins un HPV à haut risque était retrouvée dans 95,2% (20/21) des infections multiples avec présence de HPV 16 et/ou18 dans 57,1% (12/21) des cas.

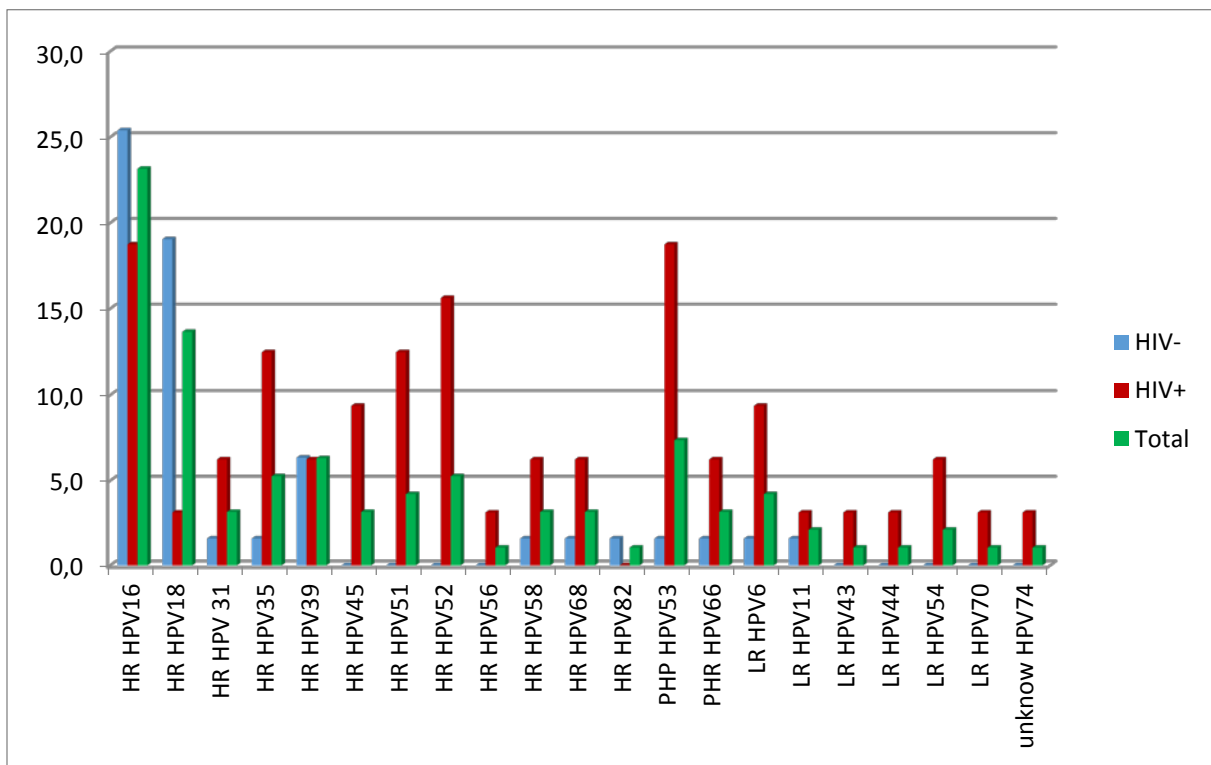


Figure II.1: Distribution des différents génotypes d'HPV chez des patientes séropositives et séronégatives au VIH dans l'ouest algérien

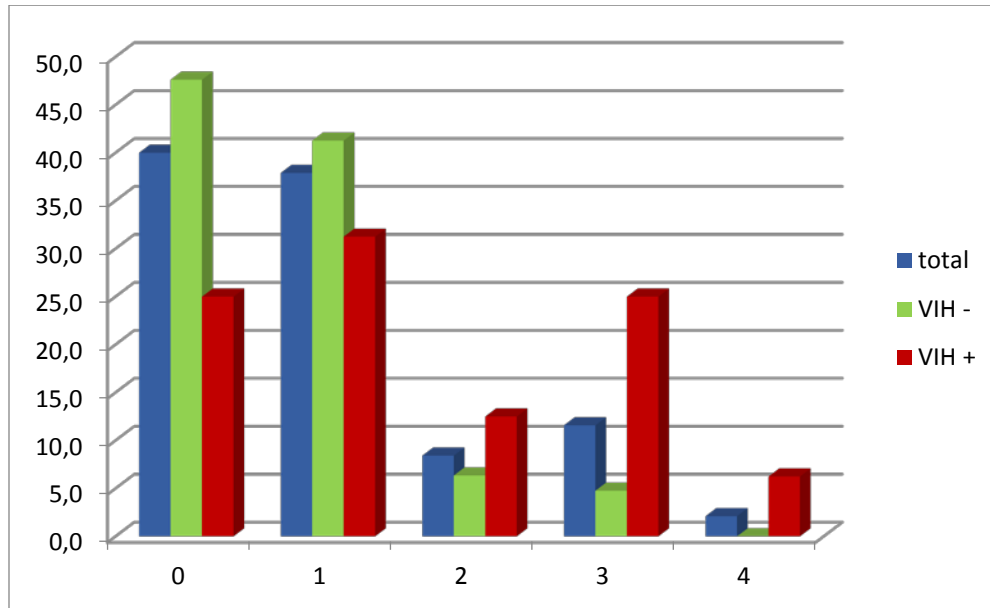


Figure II.2: Nombre de type d'HPV par patiente chez des femmes séropositives et séronégatives au VIH dans l'ouest algérien

3.4. Association entre l'infection à HPV et le résultat cytologique parmi la population étudiée

Le taux d'HPV était significativement plus élevé dans les frottis avec présence d'anomalies cytologiques que dans les frottis normaux (83,3% vs 54,5%, OR= 4,2; IC : 1,12 – 15,57 ; p = 0,025) (Tableau II.2).

Tableau II.2 : association entre le taux de l'HPV et le résultat cytologique parmi toutes les femmes étudiées

Cytologie	N	HPV négative	HPV positive	OR (IC à 95%)	Chi2 (p valu)
		n (%)	N (%)		
Normale	77	35 (45,5)	42 (54,5)	0,2 (0,06 – 0,90)	5,04 (0,025)
Anormale	18	3 (16,7)	15 (83,3)	4,2 (1,12 – 15,57)	

3.5. Association des résultats de l'HPV et de la cytologie, à l'âge et aux autres caractéristiques des patientes

La figure II.3 montre que le taux de l'HPV diminue avec l'âge contrairement au taux des lésions précancéreuses de haut grade qui augmentent remarquablement après l'âge de 50 ans.

Il est à noter que 70% de ces femmes (qui ont 50 ans et plus) et 75% des femmes avec des lésions de haut grade, ont fait le frottis pour la première fois.

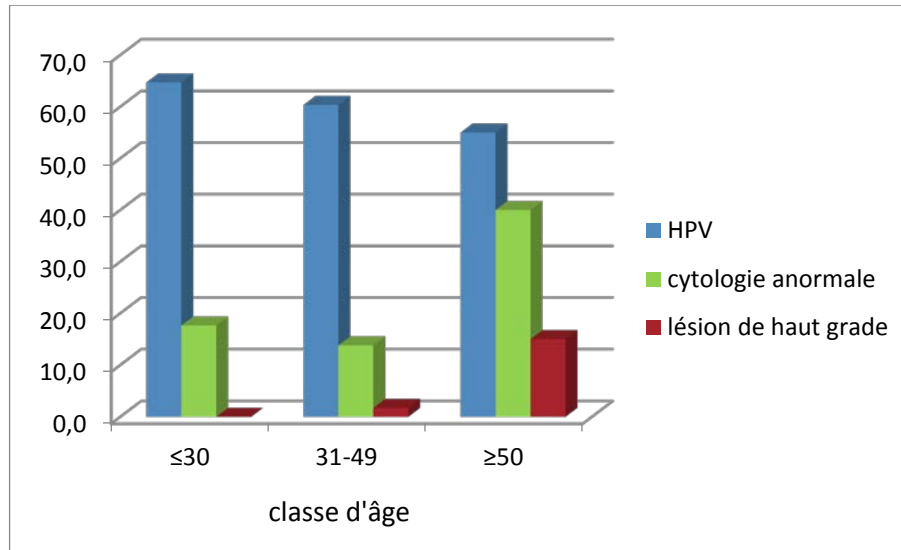


Figure II.3 : taux de l'HR HPV et des lésions cytologiques en fonction des classes d'âge

Aucune association entre le développement de lésion de haut grade et les facteurs de risque mentionnés dans la littérature n'a été observée dans notre étude. Cependant, parmi les patientes séropositives pour le VIH-1, nous avons pu constater une association positive de la présence des anomalies cytologiques à l'utilisation de contraceptifs oraux (OR = 6,429 IC à 95% : 1,0 - 41,2 ; p = 0,036) et à la polygamie du partenaire (OR = 1,63 IC à 95% : 0,1 - 17,3 ; p = 0,021).

3.6. Caractéristiques de l'infection HPV et des anomalies cytologiques selon la séropositivité des femmes au VIH-1

Parmi les femmes infectées par le VIH-1, le taux des HPV retrouvé était de 75%, celui des HR-HPV était de 59,4%. Parmi les femmes non infectées par le VIH-1, le taux d'HPV retrouvé était 52,4% et celui de l'HR-HPV était de 47,6%.

Le taux de l'infection à HPV était significativement plus élevé chez les patientes séropositives pour le VIH-1. Ce taux plus élevé concernait aussi bien les HR-HPV (6 fois plus élevé chez les VIH+) et les LR-HPV, en revanche, il n'était pas observé de différence significative entre les deux groupes pour le taux de HPV16/18. (Tableau II.3).

La figure II.1 démontre que les génotypes d'HPV détectés, apparaissent dans un autre ordre de prévalence chez les patientes séropositives au VIH-1. Les génotypes les plus fréquents chez cette catégorie de femmes étaient : HPV16 et HPV53 (18,8%) ; HPV52 (15,6%) ; HPV35 et

HPV51 (12,5%)... En revanche, en dehors des femmes séropositives au VIH, les génotypes d'HPV les plus prévalent étaient : HPV16 (25,4%) ; HPV18 (19,0%) et HPV39 (6,3%).

Plusieurs types d'LR-HPV sont diagnostiqués chez les femmes séropositives aux VIH-1 contrairement aux autres femmes où il n'a été détecté que deux types d'LR-HPV : l'HPV 6 et l'HPV 11 et avec une moindre prévalence (1,6%) (Figure II.1).

Les infections HPV multiples étaient significativement plus fréquentes chez les patientes séropositives pour le VIH-1 (43,8% VS 11,1% ; OR = 6,3; IC : 2,2 – 17,8 ; $p < 0.0001$) avec un nombre de types d'HPV par patiente plus élevé par rapport aux femmes séronégatives (figure II.2 ; tableau II.3).

Tableau II.3 : taux de l'HPV selon le potentiel oncogénique parmi les patientes séropositives et non séropositives au VIH

	Total 95 (%)	HIV – 63 (%)	HIV+ 32 (%)	Chi2 (P value)	OR (CI à 95%)
HPV+	57 (60)	33 (52,4)	24 (75,0)	4,5 (0,033)	2,7 (1,1 – 7,1)
HPV16 et/ou 18	28 (29,5)	21 (33,3) ¹	7 (21,9) ²	1,340 (0,247)	0,6 (0,2–1,5)
HR HPV autre que 16 et 18	27 (28,4)	10 (15,9) ¹	17 (53,1) ²	14,5 (<0,001)	6,0 (2,3-15,8)
pHRHPV	10 (10,5)	2 (3,2)	8 (25,0)	8,5 (0,003) ³	10,2 (2-51,4)
LR HPV	11 (11,6)	3 (4,8)	8 (25,0)	6,6 (0,01) ³	6,7 (1,6-27,3)
Multiples HPV	21 (22,1)	7 (11,1)	14 (43,8)	13,1 (<0,001)	6,2 (2,2– 17,8)

¹ 4 échantillons combinent des infections à HPV et/ou 18 à des infections à HR HPV autre que 16 et 18

² 1 échantillon combinent des infections à HPV et/ou 18 à des infections à HR HPV autre que 16 et 18

³ effectif théorique inférieur à 5 → chi2 corrigé de Yates

En ce qui concerne le taux des anomalies cytologiques, il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les femmes séropositives (21,9%) et séronégatives (17,5%) pour le VIH-1.

4. Discussion

Cette étude est, à notre connaissance, parmi les premières études portant sur les infections HPV dans l'ouest algérien et la première incluant des patientes séropositives pour le VIH-1 en Algérie.

Le taux d'HPV retrouvé parmi tous les échantillons était de 60%. Parmi les femmes non infectées par le VIH le taux retrouvé était 52,4% ce qui est beaucoup plus élevé que les résultats observés dans la population générale de la région d'Alger (**Hammouda et al., 2011**). Dans une

méta-analyse, une prévalence globale de 12,8% a été rapportée pour l'Afrique du Nord (**Ogembo et al., 2015**). Cette différence est expliquée par le fait que cette sélection de femmes étudiée n'est pas représentative de la population générale puisqu'il s'agit de patientes vues en consultation gynécologique avec une majorité d'entre elles présentant un examen visuel du col anormal, il s'agit donc d'une population de femme à risque accru d'infection à HPV. D'ailleurs, ce taux est à rapprocher de celui observé chez des patientes consultant dans un service de gynécologie au Maroc et qui était de 42,5% (**Bennani et al., 2012**). De plus, le taux des anomalies obtenu parmi cette population (18,1%) est remarquablement supérieur à celui obtenu dans une étude rétrospective portant sur l'activité de dépistage dans la région de l'ouest Algérien (5,1%) (**Boublenza et al., 2012**).

En dehors des limitations dues à la sélection des patientes, cette prévalence plus élevée peut s'expliquer par l'utilisation du test INNO-LiPA, reconnu comme étant plus sensible, que les tests HPV de dépistage pour détecter de faibles charges virales [(**Hesselink et al., 2008**) ; (**Ngou et al., 2015**)].

La prévalence de l'infection HPV de près de 83,5% observée chez les femmes présentant un frottis anormal est en accord avec la littérature, notamment avec les données issues de méta-analyses (**Bosch et al., 2008**).

Il est classiquement observé une prévalence augmentée des lésions cytologiques et histologiques chez les femmes positives pour le VIH-1 [(**Hawes et al., 2003**) ; (**Strickler et al., 2005**) ; (**Didelot Rousseau et al., 2006**)], car lorsque le système immunitaire est compromis, l'élimination de l'infection concomitante est moins efficace, la transformation maligne est plus grande et le taux de régression des lésions est plus faible (**Clarke et Chetty, 2002**). Dans cette étude la prévalence des anomalies cytologiques n'est pas significativement différente entre les femmes séronégatives et les femmes séropositives pour le VIH-1. Cela est très probablement dû au biais de sélection des femmes séronégatives pour le VIH-1, recrutées sur la base d'une pathologie gynécologique.

En accord avec ce qui est rapporté dans la littérature [(**Levi et al., 2002**) ; (**Berrébi et al., 2008**) ; (**De Vuyst et al., 2008**) ; (**Dartell et al., 2012**)], nous retrouvons une prévalence plus élevée d'infections HPV chez les femmes séropositives pour le VIH. Cette élévation de prévalence s'observe essentiellement avec les HPV, autres que HPV-16 et 18, qui sont souvent

mieux contrôlés par la réponse immunitaire (chez des individus immunocompétents). Cela confirme l'hypothèse qui suggère que l'HPV 16 et l'HPV 18 aurait une meilleure capacité évolutive à échapper aux effets de la surveillance immunitaire (**Strickler et al., 2003 ; 2008**). Cette différence dans la distribution des génotypes chez les femmes séropositives pour le VIH-1 est d'ailleurs en accord avec des données rapportées précédemment [(**Clifford et al., 2006**) ; (**Didelot Rousseau et al., 2006**) ; (**Luque et al., 2006**) ; (**Sahasrabudde et al., 2007**)].

Les infections multiples sont également très nombreuses chez les patientes VIH + de notre étude, on les retrouve chez presque la moitié de ces patientes, et la majorité sont associées à des HR-HPV, particulièrement l'HPV 16 et 18. Selon plusieurs études, l'infection par un HPV 16 est associée à un risque accru d'acquisition ultérieure d'un autre type d'HPV [(**Fife et al., 2001**) ; (**Liaw et al., 2001**)]. Ce taux élevé des infections multiples parmi les femmes séropositives s'explique par le mode de transmission commun des HPV et des VIH et par la réduction de l'immunité cellulaire systémique et locale chez les femmes VIH positives ce qui provoque l'incapacité à éliminer les infections à HPV et la réactivation des infections à HPV latentes ; permettant à différents types d'HPV de s'installer dans l'épithélium cervical [(**Ahdieh et al., 2000**) ; (**Del Mistro et Chieco-Bianchi, 2001**) ; (**Strickler et al., 2005**) ; (**Garbugliaa et al., 2012**) ; (**Munoz et al., 2013**)].

L'HPV16 et l'HPV18 sont les HPV les plus fréquemment rencontrés chez nos patientes, ce sont aussi ceux pour lesquels les risques d'évolution vers un cancer invasif sont les plus élevés (**Bosch et al., 2013**). Ces deux génotypes, qui ont été les plus répandus dans une série de cancers du col de l'utérus étudiée dans l'ouest Algérien (**Nahet et al., 2016**), sont également ceux ciblés par la vaccination anti-HPV et nos résultats, bien qu'obtenus sur un faible nombre de patientes, suggèrent que la vaccination des femmes en Algérie aurait un réel impact en terme de santé publique.

Par rapport à l'âge, et en accord à la littérature, le taux d'HPV le plus élevé est observé avant 30 ans puis diminue avec l'âge accompagné de l'augmentation des lésions précancéreuses particulièrement les lésions de haut grade, ce qui est en accord avec les études qui suggèrent que la majorité des infections à HPV sont transitoires avant cet âge et que les infections après cet âge, particulièrement celle à HPV à haut risque, sont susceptibles à traduire une infection persistante pour laquelle une lésion cervicale est ou sera développée (**Halfon et al., 2013**).

Il a été constaté aussi dans ce travail, une association significative entre les anomalies cytologiques et la contraception orale ainsi qu'avec la polygamie du partenaire chez les patientes séropositives au VIH-1. La contraception orale est en effet reconnue comme facteur de risque pour le développement de lésions cervicales. Il a même été démontré que le risque de développement du cancer du col augmentait avec l'augmentation de la durée de contraception orale [(**Smith et al., 2003**) ; (**Vessey et Yeats, 2013**)]. En ce qui concerne la polygamie du partenaire, cette pratique a été identifiée comme un facteur de risque en Algérie (**Hammouda et al., 2005**) et illustre le fait que le risque de cancer du col utérin pour une femme donnée est autant lié au comportement sexuel de son partenaire qu'à son propre comportement sexuel (**Bosch et al., 1996**).

Il a été remarqué que la majorité des femmes de 50 ans et plus et que la majorité des femmes qui ont une lésion de haut grade, n'ont jamais fait de frottis auparavant, tandis qu'il a été démontré que le cancer du col se développe à un âge précoce en Algérie [(**Boublenza et al., 2012**) ; (**Nahet et al., 2015**)] et que l'objectif principal du dépistage est de détecter les lésions précancéreuses avant leur progression vers un cancer (**Blanc, 2005**). Voilà pourquoi, le dépistage en Algérie, est actuellement recommandé une année après le mariage, alors que depuis son lancement en 2001, il était recommandé après l'âge de 30 ans (**DGSS, 2016**).

Il en est de même pour les femmes séropositives au VIH de cette étude, qui toutes, à l'exception d'une, n'ont jamais bénéficié d'un frottis cervical avant celui effectué dans le cadre de ce travail, cela n'est pas en accord avec les recommandations de l'OMS, ni avec ceux du CDC qui suggèrent un suivi de la patiente séropositive au moins une fois par année à partir de la découverte de la séropositivité (sans prendre en compte l'âge de la patiente [(**CDC, 1998**) ; (**OMS, 2017**)]).

Selon la direction de la santé et de la population au ministère algérien de la santé (DSP) le dépistage n'atteint que 10,4 pour 100 000 femmes de la population cible, alors que la plupart des cancers (90%) sont associés à l'absence de dépistage ou à un dépistage défaillant (**sadouki et al., 2010**). En effet, le rapport cancer/infection HPV est estimé à 1/1000 à 40 ans. Cependant, en l'absence de dépistage, on peut penser que ce rapport serait de 10 à 50 fois plus important soit 1 à 20/100 (**Monsonogo, 2007**).

5. Conclusion

Cette étude montre une prévalence élevée des infections à HPV et des anomalies cytologiques du col utérin chez les femmes de l'Ouest Algérien consultant en gynécologie ou séropositives pour le VIH, Il parait donc important que des mesures de prévention faisant appel à la vaccination anti-HPV et surtout au dépistage organisé puissent être mises en œuvre.

En ce qui concerne les femmes séropositives pour le VIH, à risque accru d'infection HPV, une surveillance gynécologique étroite et un suivi régulier sont nécessaires chez ces femmes. Ce qui permet la prévention non seulement du cancer du col utérin, mais aussi des autres cancers de la vulve ou de l'anus car les atteintes chez l'immunodéprimée ont tendance à être multifocales.

Chapitre 2 : Apport du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin parmi une population de l'Ouest Algérien

1. Objectif de l'étude

L'expérience dans les pays développés a démontré que des programmes de dépistage organisé qui combinaient l'étude cytologique et le test HPV, pouvaient réduire considérablement l'incidence de ce cancer et le taux de mortalité associé (OMS, 2007). De ce fait, il nous a semblé utile d'étudier l'apport du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin chez des femmes de la Wilaya de Tlemcen.

Les objectifs spécifiques de ce travail sont les suivants:

- Evaluer le taux d'HPV à haut risque obtenu par le test Amplicor, test conçu pour le dépistage du cancer du col, parmi les femmes vues en consultation gynécologique dans la Wilaya de Tlemcen ;
- Déterminer l'apport du test HPV, en combinaison à la cytologie; en triage des ASCUS ; après une colposcopie et/ou une biopsie et en surveillance post- thérapeutique, dans le dépistage du cancer du col de l'utérus au sein de la population vue en consultation gynécologique dans la Wilaya de Tlemcen.

2. Méthodologie

2.1. Échantillonnage

Un total de 98 échantillons a été obtenu chez des patientes recrutées dans des cabinets médicaux de gynécologie et d'anatomopathologie privés de la Wilaya de Tlemcen.

Les prélèvements pour la recherche de l'HPV ont été réalisés à l'aide d'une cytobrosse sur milieu liquide ThinPrep (Hologic, Villepinte, France). Ils ont été effectués après le frottis cervical sur lame pour l'étude cytologique, ou après une colposcopie et/ou une biopsie précédé du frottis suite à la demande du gynécologue ou de l'anatomopathologiste traitant.

2.2. Critères d'exclusion et d'inclusion

2.2.1. Critère d'exclusion

Etait exclus de cette étude :

- Tout échantillon non analysé ou ayant présenté un résultat invalide par le test Amplicor.
- Tout échantillon appartenant à une patiente, pour laquelle, le résultat de la lecture cytologique n'a pas été présenté.

Le nombre d'échantillons n'ayant pas présenté un test HPV valide et/ou un résultat de la lecture cytologique et donc exclus de l'étude sont 22 échantillons.

2.2.2. Critère d'inclusion

Etait inclus dans l'étude tout échantillon n'ayant pas présenté un des critères d'exclusion. Au total, 76 prélèvements ont été inclus dans cette étude. Parmi lesquels : 50 appartenaient à des femmes qui ont effectué un FCU et 26 appartenaient à des femmes qui ont effectué un FCU + une coloscopie et/ou biopsie. Six patientes avaient fait le frottis pour un contrôle post thérapeutique.

2.3. Lecture cytologique et histologique

Les examens cytologiques et histologiques étaient réalisés dans des laboratoires d'anatomopathologie privés de Tlemcen. La lecture cytologique des FCU était interprétée selon la classification de Bethesda (annexe 1). La coloscopie et la biopsie étaient interprétées selon la classification de Richart (classification des CIN).

2.4. Détection de l'HR-HPV par Amplicor HPV HR

La détection des HPV par Amplicor était réalisée au laboratoire Virus et Cancer à l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), à Alger. Les troussees étaient fournies par le laboratoire de recherche LAMAABE-Université de Tlemcen.

Le test Amplicor est un test qualitatif in vitro qui permet la détection de 13 HPV à haut risque, en utilisant le kit spécifique (annexe 8). Ce test comporte trois procédés principaux :

2.4.1. Extraction de l'ADN : La lyse cellulaire est effectuée dans des conditions de dénaturation et à des températures élevées en utilisant la protéinase K, un agent chaotropique et un détergent. Les acides nucléiques sont ensuite isolés et purifiés à l'aide de réactif d'élution et de colonne spécifique contenant de la silice.

2.4.2. Amplification par PCR : réalisée par utilisation d'amorces marquées à la biotine qui ciblent une séquence de nucléotides dans la région L1 du génome HPV d'une longueur de 165 pb. Elle est conçue pour amplifier les 13 génotypes d'HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68). Une paire d'amorce supplémentaire, qui cible le gène humain de la β -globine, est utilisée pour fournir un contrôle de l'adéquation, de l'extraction et de l'amplification des cellules.

2.4.3. Hybridation et Détection : les amplicons marqués à la biotine sont hybridés avec des sondes oligonucléotidiques fixées à des puits de détection. Ils se lient ensuite au conjugué avidine peroxydase qui forme un complexe coloré suite à l'ajout du peroxyde d'hydrogène. L'absorbance est mesurée à 450 nm par le lecteur de microplaque [(Roche Diagnostics, 2004) ; Dalsteinet *al.*, 2007)].

2.5. Analyse statistique

Le traitement de données était réalisé à l'aide du Microsoft Excel 2007.

3. Résultats

3.1. Description des résultats des examens morphologiques et du test HPV parmi la population étudiée

Parmi la totalité des patientes étudiées (76 prélèvements) :

- L'âge moyen était de 46,1 ans.
- La cytologie a révélé les résultats suivants : 19,7% ont présenté un résultat cytologique normal (y compris présence d'autres modifications non néoplasiques); 30,3% ont présenté un ASCUS (cellules épithéliales avec atypie de signification indéterminée) ; 39,5% une LSIL (lésion de bas grade) et 10,5% une HSIL (lésion de haut grade).
- Le test Amplicor a révélé un taux d'HR-HPV de 17,1%

Parmi les 26 patientes analysées par colposcopie et/ou biopsie, cet examen a révélé six examens sans anomalie (23,1%), dix-neuf CIN1 (73,1%), et une CIN2 (3,8%).

3.2. Répartition des résultats du test HPV en fonction des examens effectués

La figure II.4 résume la répartition des résultats du test HPV chez les 50 patientes qui ont été testées par Amplicor après l'examen cytologique et chez les 26 patientes qui ont été testées après un examen cytologique et une colposcopie (ou biopsie).

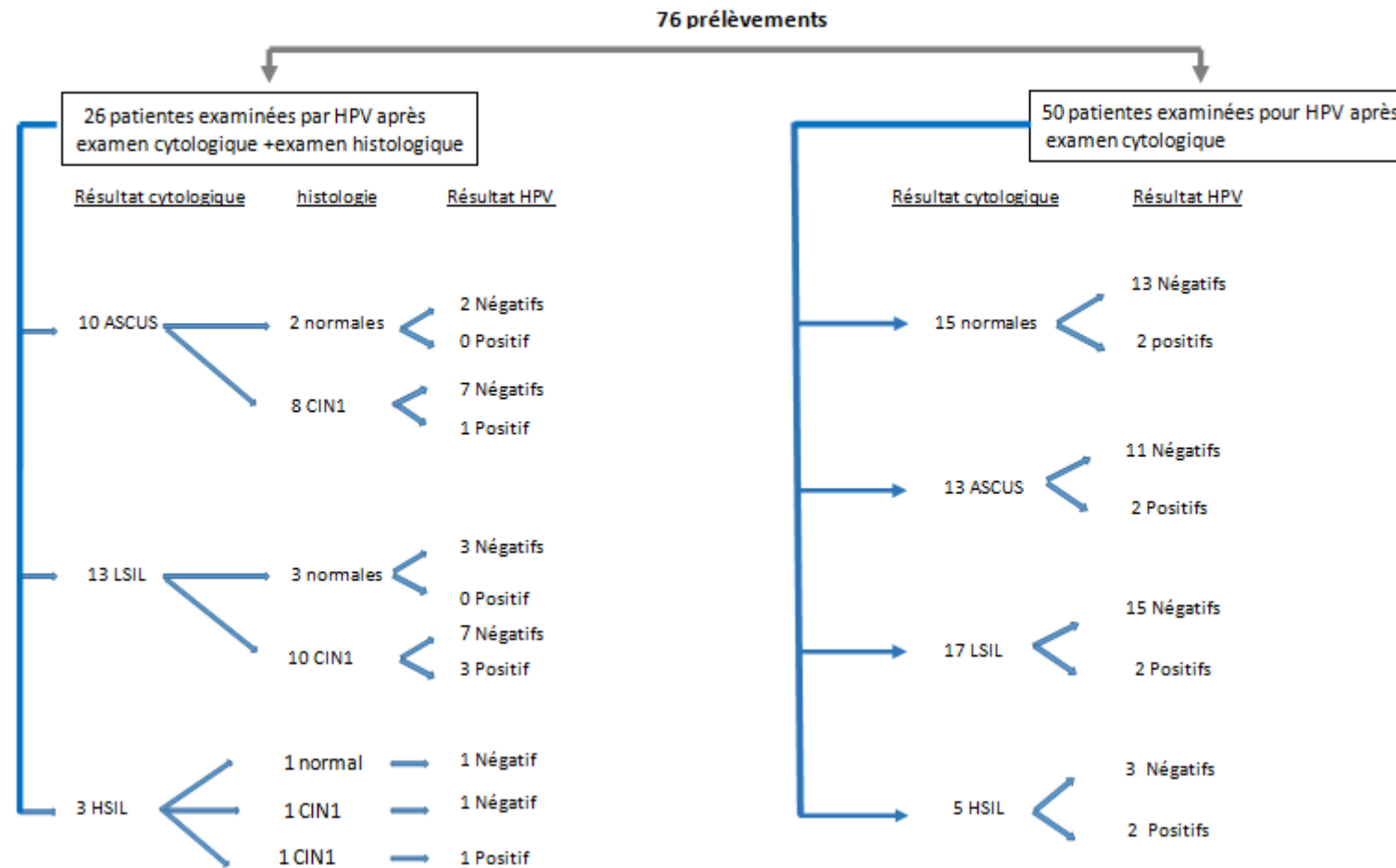


Figure II.4: Répartition des résultats du test HPV en fonction des examens effectués

3.2.1. Taux de l'HPV parmi les patientes examinées par Amplicor après examen cytologique

Parmi les 50 femmes examinées par cytologie puis par test Amplicor, l'HPV était retrouvé dans 13,3% des frottis normaux, 15,4% des ASCUS, 11,8% des lésions de bas grade et dans 40% des lésions de haut grade (tableau II.4).

Tableau II.4: taux de l'HR-HPV obtenu selon la lecture cytologique

Résultat HPV	Résultat cytologique des 50 prélèvements							
	Normal (N 15)		ASCUS (N 13)		LSIL (N 17)		HSIL (N 5)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Négatif	13	86,7	11	84,6	15	88,2	3	60
Positif	2	13,3	2	15,4	2	11,8	2	40

3.2.2. Taux de l'HPV parmi les femmes examinées par Amplicor après examen cytologique et examen colposcopique

La figure II.4 et le tableau II.5 démontrent que chez les 26 patientes examinées par cytologie, par colposcopie (ou biopsie) et par Amplicor, les résultats se présentent comme suit :

- Parmi les 10 patientes avec ASCUS, 100% des colposcopies normales étaient négatives pour l'HR-HPV et 12,5% des CIN1 étaient positives pour l'HR-HPV soit 10% des ASCUS.
- Parmi les 13 patientes présentant une lésion de bas grade par cytologie, 100% des colposcopies normales étaient négatives pour l'HR-HPV et 30% des CIN1 étaient positives pour l'HR-HPV.
- Parmi les 3 patientes présentant une lésion de haut grade, une seule 33,3% a présenté une CIN2 et un test HR-HPV positif.

Tableau II.5 : Taux de l'HPV parmi les patientes examinées par Amplicor après examen cytologique et examen colposcopique

Cytologie	colposcopie/biopsie											
	N	HPV+ (%)	HPV - (%)	Normal			CIN1			CIN2		
N				HPV+ (%)	HPV - (%)	N	HPV+ (%)	HPV - (%)	N	HPV+ (%)	HPV - (%)	
ASCUS	10	10%	90%	2	0%	100%	8	12,5%		0	/	/
LSIL	13	23,1%	76,9%	3	0%	100%	10	30%		0	/	/
HSIL	3	33,3%	66,6%	1	0%	100%	1	0%	100%	1	100%	0%
totalité	26			6	0%	100%	19	21,1%	78,9%	1	100%	0%

3.3. Résultat du test HPV parmi les femmes examinées pour une surveillance post thérapeutique

L'examen cytologique des six prélèvements obtenus en post thérapeutiques, a révélé que 3 prélèvements (50%) ont présenté un ASC-US ; 2 prélèvements (33,3%), des lésions de haut grade et un prélèvement (16,7%) a présenté une cytologie normale.

Le test HPV, a révélé un seul prélèvement positif parmi ces 6 échantillons (soit 16,7%), obtenu après une cytologie révélatrice d'un ASC-US.

4. Discussion

En Algérie, malgré le lancement d'un programme national de dépistage depuis 2001, les résultats ne sont pas à la hauteur des objectifs fixés. En effet, 1600 cas de cancer du col sont enregistrés chaque année à travers le pays [(Sadouki et al., 2010) ; (Bray et al., 2018)], la plupart des cas incidents sont associés à l'absence du dépistage ou à un dépistage déficient ; d'ailleurs, l'étude de Boublenza et al., (2012) portant sur l'analyse des activités de dépistage à Tlemcen a démontré que le dépistage touchait un taux restreint de la population et à un âge tardif.

Le dépistage en Algérie est fondé sur la lecture cytologique des FCU qui, selon le résultat, peut être suivi d'un examen de colposcopie et/ou d'une biopsie (annexe 10). Même si le FCU a fait la preuve de son efficacité dans les pays développés, en permettant la réduction historique de la mortalité liée au cancer du col de l'utérus, ses performances sont limitées ; la principale limite est sa faible sensibilité (Carcopino et al., 2011). C'est pourquoi dans ces pays développés, le dépistage a abordé une nouvelle ère où, en plus des anomalies morphologiques des cellules, il est recherché l'agent causal de ce cancer par un test biologique simple, fiable et reproductible : le test HPV. La sensibilité de ce test est nettement supérieure au FCU (96,1% versus 53%), alors que sa spécificité est inférieure à celle du FCU (90,7% versus 96,3%) (Cuzick et al., 2006). Une association entre ces deux examens augmenterait l'efficacité du dépistage avec une valeur prédictive négative (VPN) de près de 100% (Monsonogo et al., 2007). Cette stratégie de dépistage a été validée par la FDA depuis 2003, elle est recommandée aux Etats Unis et mise en place dans quelques pays Européens [(ANAES, 2004) ; (Cuzick et al., 2008)].

Dans la présente étude, nous avons mis à la disponibilité des médecins le test HPV afin d'estimer son apport dans le diagnostic des lésions précancéreuses chez quelques patientes de la Wilaya de Tlemcen. 17,1% d'HR-HPV ont été obtenus parmi tous les échantillons ; une valeur

plus élevée que le taux d'HR-HPV obtenu à Alger (12,3%) (**Sadouki et al., 2010**) et à Sidi Belabbes (7,3%) (**Serour et al., 2016**).

L'HR-HPV a été détecté dans 13,3% des FCU normaux, un taux qui se rapproche de celui retrouvé, par Khenchouche et al. (**2013**) chez des femmes algériennes présentant des FCU normaux et de celui obtenu dans une méta-analyse portant sur les femmes sans anomalies cytologiques (**de Sanjosé et al., 2007**).

La présence de l'HR-HPV dans les FCU normaux, ne signifie pas la présence d'une lésion, il peut s'agir d'un portage sain. En effet, la clairance virale des HPV est assez rapide et fréquente, en moyenne 70% des infections disparaissent en 12 mois et 90 % en 24 mois (**Duport, 2008**). La persistance du virus après 24 mois est le témoin de l'échappement immunitaire à l'origine de la transformation maligne et du développement des lésions précancéreuses et cancéreuses (**Orth, 2005**). Il n'y a pas actuellement de marqueurs susceptibles de mesurer cette inégalité biologique (**Monsonogo, 2006**). L'ANAES (**2004**) recommande dans ce cas de rechercher la persistance de l'infection dans les 9 à 12 mois qui suivent le premier test HPV positif.

Pour les FCU normaux accompagnés d'un test HPV négatif, les patientes sont rassurées car le risque de développer un cancer dans les années qui suivent est quasi nul. Ce qui permettrait d'élargir l'intervalle entre les tests (**Monsonogo, 2005**). D'après l'OMS (**2014**), l'examen de contrôle peut se répéter après 5 ans, alors que si le frottis était réalisé seul, un contrôle serait recommandé après 6 mois, ou après un an.

Parmi les ASCUS analysés par Amplicor après la cytologie, seulement 15,4% sont positifs pour l'HR-HPV, et seront donc orientés en colposcopie. La majorité (84,6%) était négative pour l'HR HPV ; dans ce cas l'examen cytologique se répète après un an, au lieu de le répéter après 6 mois ou d'orienter la femme vers une colposcopie (**Monsonogo, 2007**).

Parmi les 10 ASCUS qui ont été examinés par colposcopie, un seul échantillon (qui a révélé une CIN1) était positif pour l'HR-HPV ; c'est-à-dire que si le test HPV était réalisé après l'ASC-US, au lieu de la colposcopie, il aurait évité à 90% de ces femmes, l'examen de colposcopie ou de biopsie. Ce qui confirme le rôle important de ce test dans le triage des ASC-US. Il s'avère plus sensible qu'une colposcopie ou de deux frottis successifs, à reconnaître les lésions de haut grade sous-jacentes aux ASC-US [(**Mandran, 2005**) ; (**Monsonogo, 2005**)]. La

stratégie de dépistage qui repose sur le triage des ASCUS par test HPV est adoptée aux USA et dans de nombreux pays européens. En France, après un ASC-US, le test HPV est remboursable [(ANAES, 2004) ; (Riethmuller et al., 2008)].

L'HPV est retrouvé dans 11,8% des lésions de bas grade, ce qui permettrait de n'orienter que cette proportion vers la colposcopie. Ceci n'est pas en accord avec les différentes études qui suggèrent que le test HPV n'apportait pas une aide utile à l'orientation des patientes vers la colposcopie, vu que ces lésions étaient associées à un taux très élevé de HR-HPV (ASCUS/LSIL **Triage study Group, 2003**). L'American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) recommande l'orientation des patientes présentant une lésion de bas grade directement vers un service de colposcopie (**Saslow et al., 2012**). L'OMS (2007) recommande un suivi tous les 6 mois (par cytologie ou colposcopie selon la situation), jusqu'à ce que la lésion régresse, si elle évolue, il convient d'envisager un traitement immédiat.

Concernant les lésions de bas grade, examinés d'abord par colposcopie (ou biopsie) ensuite par le test HPV, ce dernier a permis de confirmer l'absence des lésions pour les résultats normaux par colposcopie (puisque 100% des colposcopies révélatrices d'un col normal étaient négatives pour l'HR-HPV) et de limiter des sur-diagnostics qui pouvaient être dû à une évaluation faussement positive par colposcopie, puisque 70% des CIN1 révélés par colposcopie étaient négatifs pour l'HR-HPV ce qui exclue la présence d'une lésion précancéreuse (**Sevestre et Boulanger, 2005**) ; le nombre important de CIN1 ne peut pas être expliqué par des anomalies provoquées par un LR-HPV (**Padberg et al., 2002**) mais reflète plutôt une interprétation plus sévère des anomalies. En effet, dans la pratique clinique, les pathologistes préfèrent parfois poser un sur-diagnostic afin d'assurer une prise en charge, plutôt que de risquer de laisser sans prise en charge d'éventuelles lésions pré-cancéreuses (**Doutre et al., 2018**).

Dans le même contexte, une cytologie révélatrice d'une lésion de haut grade doit être adressée directement en colposcopie et selon l'OMS (2007), une recherche préalable de l'HPV est inutile dans ce cas. Or, dans cette étude, le test Amplicor réalisé après une cytologie révélatrice d'une lésion de haut grade a encore permis de distinguer d'éventuels sur-diagnostics cytologiques avant de passer à la colposcopie et de confirmer des sur-diagnostics cytologiques identifiés par examen de colposcopie. Cette éventualité a été signalée précédemment [(**De May, 1997**) ; (ANAES, 2002) ; (**Monsonogo, 2007**)]. Les faux positifs sont plus faciles à déceler car ils peuvent être rattrapés par la colposcopie ou par l'histologie. Cependant, ils nécessitent, la

réalisation d'explorations complémentaires et parfois un traitement inadapté et plus agressif, ce qui génère souvent un stress important et inutile chez les patientes.

Afin de permettre une détermination rigoureuse des résultats, des relectures consensus avec des échanges d'expériences entre pathologistes, ont déjà été recommandées (**Doutre et al., 2018**). En Algérie, peu de données portant sur la reproductibilité et la performance des examens de dépistage sont disponibles (**Sadouki et al., 2010**).

En ce qui concerne la surveillance post-thérapeutique, il a été démontré que l'HPV est éliminé chez la majorité des femmes qui sont traitées pour des lésions de haut grade [(**Nagai et al., 2000**) ; (**Kucera et al., 2001**)]. Ce qui s'applique sur la série étudiée dans ce travail, car un seul échantillon était positif pour l'HR-HPV parmi les 6 femmes examinées pour un suivi post thérapeutique (soit 16,7%). Les résultats de plusieurs études suggèrent l'utilisation du test HPV combiné à la cytologie pour suivre les femmes traitées pour des lésions de haut grade du col utérin [(**Houfflin et al., 2003**) ; (**Zielinski et al., 2004**) ; (**Benchimol et al., 2005**) ; (**Alonso et al., 2006**)]. Cette combinaison permet d'éviter les frottis répétés pendant la période de suivi chez les femmes présentant un résultat cytologique normal et un test HPV négatif [(**Bodner et al., 2002**) ; (**Zielinski et al., 2004**)]. Pour les femmes chez qui l'HPV à haut risque est détecté, une surveillance plus stricte est imposée. Le test HPV permet donc, de mieux dépister les vraies lésions résiduelles en concentrant son effort de surveillance sur une population plus exposée au risque (**Benchimol et al., 2005**).

5. Conclusion

Globalement, l'utilisation du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin dans cette étude a permis :

- de n'orienter vers la colposcopie que 15,4% des ASCUS et 11,8% des LSIL,
- d'allonger le contrôle des FCU normaux à 3 ou 5 ans pour 86,7% des FCU normaux,
- d'indiquer l'existence d'un sur-diagnostic par cytologie des lésions de haut grade.
- de limiter des surdiagnostics liés à une évaluation faussement positive de la colposcopie et par conséquent les sur-traitements.

D'une façon générale, le dépistage combiné permet d'une part le dépistage plus précoce des lésions précancéreuses, réduit le risque de leur développement et allonge le délai de frottis de contrôle. Sa réalisation avant la colposcopie, a l'avantage de réduire les sur-diagnostic, et les

sur-traitements. Il évite le stress pour les patientes et aussi le surcoût inutile, il améliore ainsi la performance du clinicien à reconnaître en colposcopie des lésions réelles que la colposcopie seule fait moins bien et à augmenter la pertinence à reconnaître les lésions résiduelles après le traitement.

Chapitre 3 : Comparaison de trois techniques de détection du Papillomavirus Humain : INNO-LiPA HPV Genotyping, Cobas 4800 HPV et AmpliCor HPV HR

1. Contexte de l'étude

La détection des papillomavirus humains est réalisée par des techniques de biologie moléculaire. Ces techniques sont nombreuses et parfois complémentaires ; elles reposent sur le principe de l'amplification génique et l'hybridation moléculaire. Certaines de ces techniques sont utilisables en routine aux laboratoires ; d'autres sont désormais utilisables dans la recherche scientifique (**Ollier et Giordanengo, 2008**).

Dans le chapitre 1, afin de caractériser l'infection à HPV dans l'Ouest Algérien, il a été utilisé la technique INNO-LiPA HPV Genotyping qui permet l'identification de 28 types d'HPV.

Dans le chapitre 2, l'utilisation du test HPV dans le dépistage du cancer du col utérin, a été étudiée en utilisant le test AmpliCor HPV HR qui permet la détection des 13 HR-HPV.

Dans un travail de la même équipe et dans le cadre de préparation d'une autre thèse (**Boublenza, 2014**), le test Cobas 4800 HPV HR a été utilisé, ce test permet de détecter 14 HR-HPV avec génotypage partiel de l'HPV16 et l'HPV18.

Un certain nombre d'échantillons a été utilisé dans chacune des trois études mentionnées ci-dessus et donc analysé par les trois techniques de détection d'HPV: INNO-LiPA, AmpliCor et Cobas. Il nous a donc semblé utile de comparer les résultats obtenus par ces trois tests.

2. Objectifs

Les objectifs de cette étude sont les suivants :

- Evaluer la concordance entre les tests ;
- Evaluer l'association des résultats de chaque test à l'analyse cytologique ;
- Evaluer la performance de ces tests en fonction des résultats obtenus dans cette étude ;
- Déduire les avantages et les limites de chaque test, et distinguer un test de dépistage d'un test de génotypage.

3. Méthodologie

3.1. Echantillonnage

Les prélèvements pour la recherche de l'HPV ont été réalisés à l'aide d'une cytobrosse sur milieu liquide ThinPrep (Hologic, Villepinte, France). Ils ont été effectués après le frottis cervical sur lame pour l'étude cytologique. Leur récolte a été effectuée en deux temps :

➤ 1ère collecte : 98 prélèvements cervico-vaginaux, obtenus chez des consultantess recrutées dans des cabinets médicaux de gynécologie et d'anatomopathologie privés de Tlemcen, ont été récoltés entre Janvier 2011 et Octobre 2011. Ces prélèvements ont été analysés par le test AmpliCor à l'IPA en Octobre 2011. 18 échantillons parmi ces prélèvements, ont été analysés aussi par l'INNO-LiPA HPV Genotyping à Montpellier (INSERM U1058) en Janvier 2012 et par Cobas HPV HR dans le laboratoire Ibn Sina à Constantine en Février 2012.

➤ 2ème collecte : 88 prélèvements cervico-vaginaux dont : 56 ont été récoltés de la même manière et dans les mêmes cabinets que la première collection, et 32 appartenant à des patientes séropositives au VIH, ont été récoltés dans le CDR IST/VIH/sida – CHU d'Oran. Cette collection était récoltée dans une période allant d'Octobre 2011 à Janvier 2012 et était analysée en Janvier 2012 (en même temps que les 18 prélèvements de la première collection) par le test INNO-LiPA HPV Genotyping. 76 échantillons parmi ces prélèvements, ont été analysés (en même temps que les 18 prélèvements de la première collection) par le test Cobas.

Au total, 18 échantillons de la première collection ont été analysés par AmpliCor, INNO-LiPA et Cobas et 76 de la deuxième collection, ont été analysés par INNO-LiPA et Cobas.

3.2 Critères d'exclusion et d'inclusion

3.2.1. Critère d'exclusion

Pour la comparaison des deux tests INNO-LiPA HPV Genotyping et Cobas 4800 HPV, il a été exclu de l'étude :

- Tout échantillon non analysé ou ayant présenté un résultat invalide par INNO-LiPA HPV Genotyping ;
- Tout échantillon non analysé ou ayant présenté un résultat invalide par Cobas 4800 HPV;
- Tout échantillon appartenant à une patiente, n'ayant pas effectuée un Frottis cervico vaginale sur lame.

Pour la comparaison des trois tests : AmpliCor, INNO-LiPA et Cobas, en plus des critères mentionnés si haut, il a été exclu tout échantillon non analysé ou ayant présenté un résultat invalide par AmpliCor HR HPV.

3.2.2. Critère d'inclusion

➤ Était inclus pour comparer les deux tests Cobas et INNO-LiPA, un total de 94 prélèvements, dont 18 appartiennent à la première collection et 76 à la deuxième collection, qui avaient un résultat valide pour le test Cobas, pour le test INNO-LiPA et pour la lecture cytologique.

➤ Était inclus, pour comparer les trois tests AmpliCor, Cobas et INNO-LiPA, les 18 prélèvements de la première collection qui possédaient, en plus d'un résultat valide pour Cobas, INNO-LiPA et pour la lecture cytologique, un résultat valide pour AmpliCor.

3.3 Description des techniques

3.3.1. Technique AmpliCor HPV® (Voir chapitre 2)

3.3.2. Technique INNO-LiPA Genotyping® (Voir chapitre 1)

3.3.3. Technique cobas 4800 HPV®

Ce test était réalisé au laboratoire Ibn Sina à constantine

Cobas 4800 HPV est un test multiplexe basé sur la technologie de PCR en temps réel, destiné à identifier l'HPV 16 et l'HPV 18 avec détection simultanée de douze autres types d'HR-HPV (HPV 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).

Cette technique utilise, donc, deux processus principaux :

a. la préparation automatisée des échantillons pour extraire simultanément l'ADN de l'HPV et l'ADN cellulaire : Sur l'instrument Cobas x 480, les échantillons étaient digérés dans des conditions dénaturantes à des températures élevées, puis lysés en présence d'un réactif chaotropique. Les acides nucléiques sont ensuite purifiés par adsorption sur des particules de verre magnétiques, lavés et finalement séparés de ces particules, les rendant prêts à être utilisés dans l'amplification et la détection de l'ADN cible par PCR.

b. amplification par PCR et détection par fluorescence des séquences d'ADN cibles : Le test Cobas® HPV utilise des amorces pour définir une séquence d'environ 200 nucléotides dans la région polymorphe L1 du génome de l'HPV. Le pool d'amorces d'HPV présentes dans le master mix est conçu pour amplifier l'ADN HPV de 14 types à haut risque (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68). Les sondes oligonucléotidiques

fluorescentes se lient aux régions polymorphes dans la séquence définie par ces amorces. Une paire d'amorces et une sonde supplémentaire ciblent le gène de la β -globine humaine (amplicon de 330 pb) pour fournir un contrôle du processus. Quatre colorants fluorescents différents sont utilisés pour la détection des produits de PCR: un pour le gène de la bêta-globine, un pour l'HPV-16, un pour l'HPV-18 et un pour les douze autres types d'HPV [(Torres *et al.*, 2012) ; (Cobas® HPV Test, 2015)].

Cobas a obtenu l'approbation de l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (US FDA ; *United State Food and Drug Administration*) en avril 2011 pour une utilisation dans le dépistage du cancer du col utérin chez les femmes de 30 ans et plus, ou chez les femmes de 21 ans et plus ayant des résultats cytologiques cellulaires ambigus.

Le tableau II.6 résume les caractéristiques de chacun des trois tests.

Tableau II.6: Résumé du principe et des caractéristiques de chacune des trois techniques étudiées

tests	INNO-LiPA	Cobas	Amplior
Génotypes détectés	28 types d'HPV	14 types d'HPV à haut risque	13 HPV à haut risque
Génotypes identifiés	6 ; 11 ; 16 ; 18 ; 26 ; 31 ; 33 ; 35 ; 39 ; 40 ; 43 ; 44 ; 45 ; 51 ; 52 ; 53 ; 54 ; 56 ; 58 ; 59 ; 66 ; 68 ; 69 ; 71 ; 70 ; 73 ; 74 ; 82	16 ; 18	/
principe	Amplification de l'ADN Hybridation inverse Révélation chromogénique	PCR en temps réel Révélation fluorescente	Amplification de l'ADN Hybridation Révélation par mesure de l'absorbance
taille du fragment d'ADN cible	65 pb	200 pb	165 pb
Région de l'ADN cible	L1	L1	L1
firme	Innogenetics®	Roche Diagnostics®	Roche Diagnostics®
approbation	CE-marque pour utilisation en Europe	Approuvée par FDA	CE-marque pour utilisation en Europe

CE-marque : marqué pour la conformité européenne

3.4. Concept de l'étude

Pour la comparaison des tests INNO-LiPA et Cobas, les 94 échantillons étaient inclus et ils n'ont été considérés positifs par INNO-LiPA que les résultats positifs pour l'un des 14 génotypes détectables par Cobas c'est-à-dire les génotypes à haut risque (tableau II.6).

Les résultats positifs pour les autres génotypes à bas risque (LR-HPV), à risque intermédiaire (pHR-HPV) ou à risque insignifiant étaient considérés comme négatifs par INNO-LiPA. Ces deux tests étaient ensuite comparés selon le potentiel oncogénique des génotypes retrouvés, c'est-à-dire selon la présence de l'HPV 16 ; HPV 18 ; et autres HPV à haut risque (HR-HPV).

Pour la comparaison du test INNO-LiPA avec AmpliCor et de Cobas avec AmpliCor, seuls les 18 prélèvements analysés par les trois techniques étaient considérés, et ils n'ont été considérés comme positifs par INNO-LiPA que les résultats positifs pour l'un des 13 génotypes détectables par AmpliCor (tableau II.6). De même, les résultats positifs pour les autres génotypes étaient considérés comme négatifs par INNO-LiPA.

Les résultats des trois tests INNO-LiPA, Cobas et AmpliCor étaient ensuite comparés selon leur association au résultat cytologique retrouvé pour chaque patiente.

La sensibilité et la spécificité des deux tests INNO-LiPA et Cobas étaient calculées selon les critères suivants : un échantillon était considéré un vrai positif si les résultats des deux tests INNO-LiPA et Cobas étaient positifs, ou si les résultats du test AmpliCor ou de la lecture cytologique étaient positifs pour les cas présentant des résultats discordants. De même, un échantillon était considéré un vrai négatif si les résultats des tests INNO-LiPA et Cobas étaient négatifs ou si les résultats du test AmpliCor ou de la lecture cytologique étaient négatifs pour les cas présentant des résultats discordants.

3.5. Etude statistique

L'analyse statistique a été réalisée dans le service d'Epidémiologie du CHU de Tlemcen à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics version 21. Pour déterminer la concordance entre deux tests, le coefficient Kappa (κ) était calculé. Une valeur κ comprise entre 0,00 et 0,20 indique un très faible accord, entre 0,21 et 0,40 indique un faible accord ; entre 0,41 et 0,60 indique un accord modéré, entre 0,61 et 0,80 indique un accord fort ; entre 0,81 et 1,00 indique un accord parfait. Le test Mc Neamar a permis d'évaluer la signification statistique (**Bland et Altman, 1986**). Afin d'étudier l'association entre deux paramètres, l'Odd Ratio, avec un intervalle de confiance de 95%, et le test chi 2 ont été calculés.

Il faut mentionner aussi que le Microsoft Excel 2007 a été utilisé pour le traitement de données et le calcul de quelques paramètres.

4. Résultats

4.1. Taux d'HR-HPV retrouvé parmi tous les échantillons analysés selon chacune des techniques

Le taux d'HR-HPV obtenu était de 17,1% parmi les 76 prélèvements analysés par AmpliCor, de 52% parmi les 123 échantillons analysés par l'INNO-LiPA et de 29,8% parmi les 94 échantillons testés par Cobas.

4.2. Taux d'HPV retrouvé parmi les échantillons utilisés pour la comparaison des techniques

Parmi les 94 échantillons testés par INNO-LiPA et Cobas, les taux d'HR-HPV étaient respectivement de 54,3% et 29,8%. Les taux d'HPV 16 et d'HPV 18 étaient respectivement de 24,5% et 14,9% par INNO-LiPA ; et de 8,5% et 2,1% par Cobas. En prenant en compte tous les génotypes détectables par INNO-LiPA, le taux d'HPV retrouvé par ce test était de 60,6%.

Parmi les 18 échantillons testés par AmpliCor, Cobas et INNO-LiPA, le taux d'HR-HPV étaient respectivement de 50%, 33,3% et 27,8%. Le tableau II.7 résume les taux d'HPV obtenus par chacune des trois techniques.

Tableau II.7 : taux d'HPV obtenu selon les génotypes détectables par chacune des techniques

Teste HPV	N	Génotypes détectés	Taux HPV
Cobas	94	14 HPV HR ¹	28 (29,8)
		HPV 16	8 (8,5)
		HPV18	2 (2,1)
		Autre HR	23 (24,5)
INNO-LiPA	94	28 HPV	57 (60,6)
		13 HPV HR ²	49 (52,1)
		14 HPV HR ¹	51 (54,3)
		HPV 16	23 (24,5)
		HPV 18	14 (14,9)
		Autre HR	28 (29,8)
		HPV LR	11 (11,7)
AmpliCor³	18	13 HPV HR ²	9 (50,0)

¹ pourcentage des 14 HPV détectables par Cobas ; ² pourcentage des 13 HPV détectables par AmpliCor

4.3. Comparaison de INNO-LiPA, Cobas et Amplicor pour la présence ou l'absence de l'HPV à haut risque

4.3.1. Concordance entre l'INNO-LiPA, Cobas et Amplicor pour la présence ou l'absence de l'HPV à haut risque

Parmi les 18 échantillons analysés par INNO-LiPA, Cobas et Amplicor, 14 (77,8%) ont un résultat concordant par les trois techniques.

Parmi les 94 échantillons analysés par INNO-LiPA et Cobas, 51 prélèvements (54,2%) ont un résultat qui concorde par ces deux tests.

La mesure d'accord entre INNO-LiPA et Cobas ($K=0,116$) est plus basse que celle entre INNO-LiPA et Amplicor ($K=0,556$) et entre Cobas et Amplicor ($K=0,667$) (tableau II.8).

Tableau II.8: comparaison de INNO-LiPA, Cobas et Amplicor en fonction de l'HPV à haut risque détecté

Tests comparés	N	Résultat de comparaison								P*	%	d'accord	K
		Pos/Pos		Pos/Neg		Neg/Pos		Neg/Neg					
		n	%	N	%	N	%	N	%				
Total	94												
Innolipa/cobas	94	18	19,1	33	35,1	10	10,6	33	35,1	0,001	54,2	0,116	
Innolipa/amplicor	18	5	27,8	0	0	4	22,2	9	50	0,125	77,8	0,556	
Cobas/amplicor	18	6	33,3	0	0	3	16,7	9	50	0,250	83,3	0,667	

* : valeur P du test Mc Nemar

4.3.2. Analyse des discordances entre INNO-LiPA, Cobas et Amplicor pour la présence ou l'absence de l'HR-HPV

Parmi les 94 échantillons analysés, 46 (48,9%) présentaient un résultat en désaccord par l'un des tests (tableau II.9).

➤ 35,1% (33/ 94 échantillons), soit 71,7% des désaccords (33/46) sont positifs par INNO-LiPA et négatifs par Cobas. L'INNO-LiPA tend à révéler plus de résultats positifs pour l'HR-HPV que le test de Cobas (54,3% VS 29,8%).

➤ 10,6% (10/94), soit 21,7% des désaccords (10/46), sont positifs par Cobas et négatifs pour l'HR-HPV par INNO-LiPA. Parmi lesquels 40% (4/ 10) sont positifs pour un LR-HPV ou à un pHR-HPV (les génotypes concernés sont : LR HPV 11, LR HPV 54, LR HPV 70, pHR HPV 53) (tableau II.9).

Parmi les 18 prélèvements, 22,2% (4/18) présentaient un résultat en désaccord, 100% de ces désaccords étaient positifs par Amplicor et négatifs pour tous les génotypes à haut risque, à bas risque et à risque intermédiaire par INNO-LiPA ; 16,7% (3/18) en étaient négatifs par Cobas aussi (Tableau II.9).

Tableau II.9 : Récapitulatif des désaccords obtenus dans la comparaison de chaque paire des trois techniques

Désaccord	InnoLipa / Cobas N=94	InnoLipa/ Amplicor N=18	Cobas / Amplicor N=18
+/-	33 (35,1%)	0	0
-/+	10 ¹ (10,6%)	4 (22,2%)	3 ² (16,7%)

¹1 échantillon parmi ces 10 a été analysé par Amplicor et a révélé un résultat positif,

²Ces 3 échantillons font partie des 4 échantillons négatifs par INNO-LiPA et positifs par Amplicor

4.4. Comparaison des résultats de INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique

4.4.1. Concordance entre INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique

En comparant les deux techniques INNO-LiPA et Cobas selon la présence d'HPV 16, HPV 18 et/ou HR-HPV autre que le 16 et le 18, il a été remarqué que la mesure d'accord est un peu plus élevée que celle de la comparaison selon la présence de tous les HR-HPV (K=0,183) (Tableau II.10).

Tableau II.10 : résultat de comparaison entre INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique

	Cobas	INNO-LiPA Genotyping HPV				Total (%)
		HPV 16	HPV 18	Autre	Négatif	
N=94	HPV 16	3	0	2	3 ¹	8 (8,5)
	HPV 18	0	1	0	0	1 (1,1)
	Autres	2	0	10	7 ²	19 (20,2)
	Négatif	18	6	9	33	66 (70,2)
Total(%)		23 (24,5)	7 (7,4)	21 (22,3)	43 (45,7)	94 (100)

Les chiffres en **gras** représentent les résultats en accord, les chiffres en *italique* représentent les résultats en désaccord

pourcentage d'accord : 50% ; kappa = 0,183 ; valeur p du teste Mc Nemar = 0,002

¹2 échantillons parmi ces 3 sont positifs pour l'HPV LR ou pHR par INNO-LiPA

²2 échantillons parmi ces 7 sont positifs pour HPV LR ou pHR par INNO-LiPA.

4.4.2. Analyse des discordances entre INNO-LiPA et Cobas selon le potentiel oncogénique

50% des échantillons, (47/94) présentaient un résultat en désaccord selon le potentiel oncogénique. Le test INNO-LiPA tend à identifier plus d'HPV 16 (24,5% vs 8,5%) et d'HPV 18 (7,4% vs 1,1%) que le test Cobas. Parmi ces désaccords, les taux des HR-HPV détectés par INNO-LiPA et négatifs par Cobas se résument comme suit : 38,3% HPV16 (18/47), 12,8% HPV18 (6/47), 19,2% autre HR-HPV (9 /47). Ceux détectés par Cobas et négatifs pour les HR-HPV étaient de : 6,4% HPV 16 (3/47) et 14,9% autre HR-HPV (7/47), (Tableau II.10).

8,5% des désaccords (4/47) étaient positifs pour l'HR-HPV par les deux tests mais le résultat est discordant : 4,3% des désaccords (2/47), ont révélé la présence d'HPV 16 par INNO-LiPA et la présence d'HR-HPV autre que le 16 et 18 par Cobas et 4,3% des désaccords ont révélé la présence d'HPV 16 par Cobas et la présence d'HPV 39 et de l'HPV 66 par INNO-LiPA.

4.5. Association de la multiplicité de l'infection à HPV aux discordances obtenues entre les tests

75% (3/4) de ces échantillons, sont des infections HPV multiples par l'une et/ou l'autre technique. De ce fait, il semblait utile d'évaluer l'effet de la multiplicité d'infection HPV sur la discordance ; les résultats ont démontré une association significativement positive entre ces deux paramètres ($p=0.012$; $\chi^2=6,285$, $OR=5,877$, IC à 95% [1,286 – 26,853]).

4.6. Comparaison des techniques selon les résultats de la cytologie

La lecture cytologique des 94 prélèvements a révélé que 77,7% avaient une cytologie normale et 22,3% une cytologie anormale dont : 6,4% ASCUS, 12,8% LSIL, 3,2% HSIL.

La prévalence de tous types d'HPV, dans les trois tests, est toujours plus élevée dans la cytologie anormale que dans la cytologie normale (Tableau II.11)

Tableau II.11 : taux d'HPV obtenu selon les génotypes détectables par chaque technique utilisée et selon les résultats de la lecture cytologique

Teste HPV	N	Génotypes Détectés	Cytologie Normale (n=73)	Cytologie anormale (n=21)	Ascus (n=6)	LSIL (n=12)	HSIL (n=3)
Cobas	94	14 HPV HR ²	18(24,7)	10(47,6)	2(33,3)	5(41,7)	3(100)
		HPV 16	4 (5,5)	4(19,1)	0 (0,0)	1 (8,3)	3(100)
		HPV18	1 (1,4)	1(4,8)	1(16,7)	0(0,0)	0(0,0)
		Autre HR	17(23,3)	6(28,6)	1 (16,7)	4(33,3)	1(33,3) ⁵
InnoLipa	94	28 HPV	39(53,4)	18 (85,7)	4(75,0)	11(91,7)	3(100)
		13 HPV HR ³	32(43,8)	17(81)	4(75,0)	11(91,7)	2(66,7)
		14 HPV HR ²	34(46,6)	17(81)	4(75,0)	11(91,7)	2(66,7)
		HPV 16	18 (24,7)	5(23,8)	0 (0,0)	3(25,0)	2(66,7)
		HPV 18	9(12,3)	5(23,8)	2(25,0)	2(16,7)	1(33,3)
		Autre HR	19(26)	10(47,6)	3(50,0)	7(58,3)	0(0,0)
		HPV LR	8(11,0)	3(14,3)	0(0,0)	2(16,7) ⁴	1(33,3)
Amplior ¹	18	13HPV HR ³	5(66,7)	4(80,0)	0(0,0)	2(100)	2(100)

¹les pourcentage sont calculés parmi les 18 échantillons testés par Amplior : cytologie normale=13 ; cytologie anormale=5 ; ASCUS=1 ; LSIL=2 ; HSIL=2

²pourcentage des 14 HPV détectables par Cobas ;

³pourcentage des 13 HPV détectables par Amplior

⁴Les HPV LR retrouvé sont combinés à des HPV HR dans ce cas

⁵Le type d'HPV retrouvé est combiné à HPV 16 dans ce cas

La concordance entre INNO-LiPA, Cobas et AmpliCor était plus importante quand le résultat de la cytologie était anormal (**Tableau II.12**).

Tableau II.12: comparaison entre INNO-LiPA, Cobas et AmpliCor en fonction de la cytologie

Tests comparés selon la cytologie	N	Résultat de comparaison								P*	% d'accord	Kappa
		Pos/Pos		Pos/Neg		Neg/Pos		Neg/Neg				
		n	%	n	%	n	%	n	%			
Cytologie normale	73											
Innolipa/cobas	73	9	12,3	25	34,2	9	12,3	30	41,1	0,009	53,4	0,045
Innolipa/ampliCor	13	1	7,7	0	0	4	30,1	8	61,5	0,125	69,2	0,235
Cobas/ampliCor	13	2	15,4	0	0	3	23,1	8	61,5	0,250	76,9	0,451
Cytologie anormale	21											
Innolipa/cobas	26	9	42,9	8	38,1	1	4,8	3	14,3	0,039	57,2	0,167
Innolipa/ampliCor	5	4	80	0	0	1	20	0	0	1	100	1
Cobas/ampliCor	5	4	80	0	0	0	0	1	20	1	100	1

* : valeur P du test Mc Nemar

4.6. Sensibilité et spécificité des techniques

Le calcul de la sensibilité et la spécificité, à détecter une infection à HR-HPV, par INNO-LiPA et par Cobas, a démontré que l'INNO-LiPA est plus sensible que Cobas mais moins spécifique.

Tableau II.13 : valeurs de sensibilité et de spécificité obtenu pour INNO-LiPA et Cobas parmi les 94 prélèvements analysés

Test	Sensibilité	Spécificité
INNO-LiPA	93%	62%
Cobas	71%	88%

5. Discussion

Dans cette étude, Les prévalence de l'infection HPV obtenues par INNO-LiPA (52%), Cobas (29,8%) et AmpliCor (17,1%), bien que différentes entre elles, restent plus élevées que les valeurs observées pour la population algérienne dans d'autres études [(Sadouki et al., 2010) ; (Hammouda et al., 2011) ; (Serour et al., 2017)]. A ce propos, il a été constaté des différences dans la prévalence de l'HPV d'une région à l'autre et même d'un laboratoire à un autre, dans la même région [(Kletter et al., 1999) ; (Bennani et al., 2011)]. Dans cette étude, la différence peut aussi être expliquée par le fait que la majorité de ces échantillons appartienne à des femmes à risque élevé d'infection HPV. De plus, il est constaté que les taux d'anomalies cytologiques sont également élevés dans ces échantillons par rapport à ceux

trouvés parmi la population générale algérienne dans les études précédentes (**Hammouda et al., 2011**).

Il est aussi admis qu'au sein de la même population, les taux d'HPV obtenus par différentes techniques peuvent varier selon la sensibilité analytique de chaque examen (**Park et al., 2012**).

La comparaison des résultats obtenus, dans ce travail, par les trois techniques, a démontré que Amplicor et Cobas présentent la concordance la plus élevée ($k=0,667$). Une étude précédente avait retrouvé une concordance pratiquement parfaite ($k = 0.872$) entre ces deux techniques (**Martinez et al., 2012**).

A notre connaissance, aucune étude n'a encore comparé Cobas HPV HR ou Amplicor HPV HR au test INNOLiPA HPV Genotyping. De ce fait, les résultats de cette étude ont été comparé à des résultats d'études où chacun des tests INNO-LiPA, Cobas et Amplicor est comparé à la technique Hybrid Capture 2 (HC2), le premier test HPV approuvé par l'US FDA pour la détection des 13 génotypes HR HPV. Ce test constitue une technique de référence dans le dépistage du cancer du col utérin et il est utilisé dans l'évaluation de la performance clinique de nouveaux tests HPV grâce à sa sensibilité clinique adéquate et sa spécificité acceptable [(**Maijer et al., 2009**) ; (**Stoler et al., 2011**)].

Ainsi, le bon accord observé entre Amplicor et INNO-LiPA dans ce travail, bien qu'il ne soit pas statistiquement significatif, semble être proche de celui observé entre HC2 et INNO-LiPA dans la majorité des études ultérieures [(**Perrons et al., 2005**) ; (**Fontain et al., 2007**) ; (**Ngou et al., 2015**) ; (**Dong et al., 2017**)], ce qui paraît logique vu que HC2 et Amplicor ont démontré des concordances élevées dans plusieurs études [(**Clifford et al., 2003**) ; (**Poljack et al., 2005**) ; (**Carozzi et al., 2007**) ; (**Halfon et al., 2007**) ; (**Gage et al., 2011**)].

L'accord entre INNO-LiPA et Cobas, quant à lui, est remarquablement et significativement faible. L'INNO-LiPA tend à révéler plus d'HPV haut risque que Cobas. A ce propos, les taux de concordance obtenus dans les études qui ont comparé Cobas et HC2 [(**Heidman et al., 2011**) ; (**Gage et al., 2012**) ; (**Park et al., 2012**) ; (**Cuzick et al., 2013**) ; (**Lloveras et al., 2013**) ; (**Cook et al., 2015**) ; (**Levi et al., 2016**)] étaient généralement plus importants que ceux obtenus entre INNO-LiPA et HC2 [(**Perrons et al., 2005**) ; (**Fontain et al., 2007**) ; (**Ngou et al., 2015**) ; (**Dong et al., 2017**)]. Ce qui est probablement dû à la grande sensibilité de l'INNO-LiPA. Il a été prouvé d'ailleurs, que le test INNO-LiPA est analytiquement très sensible et spécifique [(**Kletter et al., 1999**) ; (**Melchers et al., 1999**)].

car il est basé sur un système qui combine une amplification hautement sensible d'une large gamme de génotypes d'HPV par les amorces SPF (**Kletter et al., 1998**) et une détection simultanée et précise de plusieurs génotypes d'HPV par hybridation inverse (**Kletter et al., 1999**).

En effet, les amorces SPF permettent l'amplification d'un très petit fragment de la région L1 d'une taille de 65 pb (**Kletter et al., 1998**). A ce propos, des études ont démontré que la taille de l'amplimère est inversement proportionnelle à la sensibilité de la détection de l'ADN par PCR, car la cinétique de la réaction de PCR favorise les amplimères les plus petits [(**Garson et al., 1991**) ; (**Gillio-Tos et al., 2007**) ; (**Kocjan et al., 2011**)]. Ces amorces sont aptes à identifier des niveaux de charge virale qui sont en dessous des niveaux de détection par d'autres amorces [(**Kletter et al., 1998**) ; (**Hasselink et al., 2008**)]. De plus, la PCR dépend aussi de l'extraction d'ADN, et avec des petits amplimères, elle devient plus avantageuse (**Baay et al., 1996**). Il faut préciser aussi que la variation intra-typique du fragment amplifié par SPF entre les isolats du même type HPV est limitée et la variation inter-typique est suffisamment représentative pour l'identification des génotypes spécifiques (**Kletter et al., 1999**). De ce fait, les SPF détectent une large gamme de types d'HPV avec des sensibilités égales. En revanche, d'autres amorces peuvent avoir des sensibilités plus faibles pour certains génotypes (**Kletter et al., 1999**).

Beaucoup de travaux ont démontré que plusieurs paramètres peuvent influencer la concordance entre les techniques de détection de l'HPV tel que : l'âge et les caractéristiques des femmes sélectionnées [(**Cuzick et al., 2003**) ; (**Safaeian et al., 2007**) ; (**Stoler et al., 2007**) ; (**Rebolji et al., 2014**) ; (**Dong et al., 2017**)], la taille de l'échantillon, le type du milieu d'échantillonnage utilisé [(**Levi et al., 2016**) ; (**Lioveras et al., 2013**) ; (**Thurah et al., 2018**)], le temps de stockage des échantillons, l'utilisation d'un seul prélèvement pour plusieurs techniques ou d'un nouveau prélèvement pour chaque technique (**Kletter et al., 1998**).

Dans notre étude, les caractéristiques de la population devraient favoriser la concordance entre les techniques et n'expliquent pas le faible accord constaté entre INNO-LiPA et Cobas, car la population étudiée est une population à risque où le taux d'HPV et des anomalies cytologiques sont élevées, et devrait favoriser la concordance entre les techniques comparées. Dans une étude où ont été comparées quatre techniques de détection d'HPV à haut risque, **Rebolji et al. (2014)** ont constaté que les concordances étaient plus élevées chez les femmes vues après contrôle que chez les femmes vues pour un simple dépistage primaire.

Concernant le milieu d'échantillonnage, plusieurs travaux ont constaté une meilleure concordance entre techniques en utilisant le ThinPrep par rapport à d'autres milieux d'échantillonnage (**Levi et al., 2016**). Ce milieu, utilisé dans cette étude, est recommandé par plusieurs protocoles et validé par plusieurs études [(**Sailors et al., 2005**) ; (**Lioveras et al., 2013**) ; (**Thurah et al., 2018**)]. Le choix du milieu d'échantillonnage a donc lui aussi son impact sur les désaccords, car les seuils optimaux d'un résultat positif par un test, en utilisant un milieu d'échantillonnage donné, pourraient ne pas être optimaux en utilisant un autre milieu (**Thurah et al., 2018**). A ce propos, Levi et al. (**2016**) ont constaté que la sensibilité du test Cobas était plus élevée en utilisant le milieu Surepath par rapport à sa sensibilité en utilisant le ThinPrep. Il a été rapporté aussi que le temps et les conditions de stockage des prélèvements ont un effet inverse sur l'efficacité de la PCR [(**kocjan et al., 2011**) ; (**Thurah et al., 2018**)], ce qui peut expliquer les discordances entre les techniques dans cette comparaison car ces échantillons ont été analysés à un écart de temps de trois mois entre AmpliCor et INNO-LiPA ensuite à un écart de cinq mois entre INNO-LiPA et Cobas. De plus, les prélèvements étaient stockés à -20° ce qui pourrait être un facteur de discordance entre les tests [(**Sailors et al., 2005**) ; (**Levi et al., 2016**)].

Il faut préciser aussi qu'un seul échantillon par patiente était analysé par les trois techniques dans cette étude, ce qui peut constituer aussi une cause de discordance. D'ailleurs, 16,7% des échantillons analysés d'abord par AmpliCor sont positifs par ce dernier et négatifs par INNO-LiPA et Cobas, ce qui peut être expliqué par l'utilisation de pré-aliquots pour AmpliCor et post-aliquots pour INNO-LiPA et Cobas. Ces résultats sont en accord avec certaines études qui ont constaté un effet inverse du post-aliquot sur la technique suivante [(**Levi et al., 2016**) ; (**Van Hamont et al., 2006**)]. Ceci peut nous mener à penser qu'il est préférable d'utiliser des ré-extrait (un nouveau prélèvement pour chaque technique), or dans ce cas-là, il faut noter que la distribution inégale de l'HPV dans le tissu du carcinome peut conduire à des erreurs d'échantillonnage, donnant des résultats faussement négatifs (**Kletter et al., 1998**).

Parmi les résultats positifs pour HPV à haut risque par Cobas et négatif pour HPV à haut risque par INNO-LiPA, 40% ont été positifs pour un HPV à bas risque ou à risque intermédiaire par INNO-LiPA ; Cobas a probablement présenté dans ce cas une réaction croisée avec un HPV à bas risque ou à risque intermédiaire, Ceci a déjà été évoqué dans des travaux précédents [(**Lindermann et al., 2012**) ; (**Preisler et al., 2016**) ; (**Thurah et al., 2018**)]. Ces réactions croisées avec des génotypes à bas risque peuvent conduire à des faux

positifs et affecter par la suite la conduite à tenir devant des patientes infectées uniquement par des HPV à bas risque [(Perrons *et al.*, 2005) ; (Rebolj *et al.*, 2014) ; (Levi *et al.*, 2016)].

75% des désaccords, positifs par Cobas et INNO-LiPA et présentant des résultats différents, sont des infections HPV multiples par l'une ou l'autre technique, ce qui peut être expliqué soit par la sensibilité différente de chaque technique pour certains génotypes ou par la compétition entre génotype pour les amorces durant la PCR (Van Doorn *et al.*, 2002). Cette dernière favorise généralement l'amplification du génotype qui est présent avec un excès molaire (Van Hamont, 2006); car l'analyse de la séquence des produits de PCR ne reflète pas fidèlement la présence de plusieurs types d'HPV mais révèlent seulement le ou les types les plus prévalents (Kletter *et al.*, 1999). L'analyse de l'association de la multiplicité d'infection HPV à la discordance dans cette étude s'est avérée significative, ce qui fait suggérer un effet probable de compétition sur les discordances observées.

Concernant la concordance entre ces techniques par rapport aux anomalies cytologiques, il faut d'abord dire que plusieurs études suggèrent que la charge virale progresse parallèlement au développement des lésions précancéreuses et plus la charge est élevée plus elle est détectable par les différentes techniques [(Perrons *et al.*, 2005) ; (Kovacic *et al.*, 2006) ; (Fontaine *et al.*, 2007) ; (Halfon *et al.*, 2007) ; (Gage *et al.*, 2012) ; (Rebolj *et al.*, 2014)]. C'est ce qui explique donc, l'accord plus élevé dans nos échantillons qui ont révélé une cytologie anormale.

En ce qui concerne la performance de ces tests dans le dépistage, dans cette étude, la sensibilité clinique obtenue par INNO-LiPA était plus élevée que celle obtenue par Cobas mais sa spécificité était moindre, ce qui est en accord avec les travaux qui l'ont comparée à HC2 [(Perron *et al.*, 2005) ; (Fontaine *et al.*, 2007)]. En parallèle, il a été démontré qu'une sensibilité analytique trop élevée d'un test entraîne une diminution de sa spécificité sans avoir impact sur la sensibilité clinique ; et la performance d'un test de dépistage se résume à un équilibre entre la sensibilité clinique et la spécificité à identifier les femmes à risque d'avoir ou de développer une lésion de haut grade [(Snijders *et al.*, 2003) ; (Halfon *et al.*, 2007) ; (Hasselink *et al.*, 2008)].

Il faut reconnaître qu'une étude tel que le séquençage aurait apporté plus d'explications concernant les désaccords retrouvés ce qui était en dehors des moyens disponibles lors de la réalisation de ce travail. Ceci se rajoute à d'autres limites dans cette étude tel que :

- Les critères de sélection de la population qui ne respectent pas les protocoles proposés par les guidelines pour l'utilisation des tests HPV dans le dépistage primaire (**Meijer et al, 2009**) ; cette limite a déjà été critiquée dans une étude comparant des tests HPV (**Haweks et al, 2018**).
- L'espace de temps entre techniques qui est remarquablement grand, comme chaque technique a été réalisée dans un laboratoire suite à une demande de collaboration (temps de procédure de collaboration).
- La sélection et la taille de l'échantillon analysé par AmpliCor qui peut affecter les valeurs obtenues après comparaison).
- Le petit nombre de lésions précancéreuses identifiées dans cette étude qui minimise la signification des valeurs de spécificité et sensibilité obtenues.

5. Conclusion

Ce travail semble être le premier comparant l'INNO-LiPA à Cobas et parmi les quelques études qui ont comparé Cobas et AmpliCor. La corrélation directe était loin d'être parfaite entre les trois tests ; celle entre Cobas et AmpliCor était la meilleure dans cette étude.

En effet chaque technique présente des avantages et des limites ; L'INNO-LiPA comparé à Cobas et AmpliCor a permis de mieux caractériser les infections à HPV et d'identifier les génotypes et les infections multiples. En plus de son utilité clinique surtout avec sa distinction d'une infection persistante lors d'un examen de contrôle ou post-thérapeutique, l'INNO-LiPA apporte son impact dans les études épidémiologiques où elle permet l'étude de la prévalence d'HPV, l'hétérogénéité géographique, la concordance des partenaires sexuels, l'étude de l'infection en post-thérapeutique et en post-vaccinal. Cependant, sa grande sensibilité à détecter les petites charges virales, associée généralement à des infections transitoires, peut la rendre, cliniquement, moins pertinente

AmpliCor permet de détecter la présence de 13 HR-HPV. C'est une technique marquée par la conformité Européenne (CE). Elle est sensible, spécifique, facile à manipuler et pratique en routine pour le dépistage du cancer du col utérin mais elle ne distingue pas les génotypes spécifiques ni les infections multiples (**Halfon et al., 2007**).

Cobas qui a été approuvée par US FDA depuis avril 2011 (**Castle et al., 2009 ; 2011**), permet la détection de la présence de 14 HR-HPV. Avec sa capacité à identifier l'HPV-16 et -18 individuellement et avec sa sensibilité moindre, elle est cliniquement plus efficace à gérer les femmes positives à l'HPV 16 et 18 dans le dépistage du cancer du col utérin [(**Lloveras et al., 2013**) ; (**Levi et al., 2016**)]. D'ailleurs, la société Américaine (ASCCP) recommande le

test HPV qui détecte l'HPV 16 et 18 individuellement [(Rebolj et al., 2014) ; (Thurah et al., 2018)]. Cependant Cobas ne distingue pas les génotypes autres que l'HPV 16 et 18 et son interaction avec des LR-HPV, peut réduire sa spécificité en entraînant parfois des référéments inutiles à la colposcopie.

Il est constaté donc que Cobas et AmpliCor sont conçus pour le triage des femmes dans le dépistage du cancer du col utérin tandis que l'INNO-LiPA est plus approprié à être utilisé dans la recherche scientifique et les études virologiques (van Hamont et al, 2006). Or, il faut noter que tout type d'HPV détecté dans l'un ou l'autre essai, indépendamment de la spécificité ou de la sensibilité du test, ne doit pas être banalisé puisque le comportement naturel de ces virus et leur potentiel cancérigène demeurent ambigus.

Il faut reconnaître que la comparaison entre les tests HPV reste difficile car elle dépend parfois de l'intérêt du rédacteur ; l'analyse des désaccords peut facilement être biaisée en faveur d'une technique donnée et des règles strictes n'existent pas.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Le cancer du col utérin est un véritable problème de santé publique. Ce cancer, qui constitue la troisième cause de mortalité par cancer chez la femme en Algérie, est nécessairement causé par l'HPV. Ce travail de recherche a visé d'une part, à caractériser cette infection chez les femmes à risque dans l'Ouest algérien et d'autre part, à évaluer l'apport clinique du test HPV et à comparer différents tests.

Concernant les caractéristiques de l'infection à HPV, il a été constaté dans cette étude une large prévalence d'HPV et une grande diversité de génotypes avec une prédominance de l'HPV 16 et 18. Bien qu'obtenu sur un faible nombre d'échantillons, ce taux était significativement très élevé chez les patientes séropositives au VIH parmi les quelles, le taux des HR-HPV et des infections multiples d'HPV était 6 fois plus élevé. La contraception orale et la polygamie de partenaire ont été identifiées comme étant des facteurs de risque du développement de lésions précancéreuses parmi cette population. Ce qui caractérise aussi cette population est le fait que la majorité des femmes n'avaient jamais eu de dépistage auparavant, y compris les femmes âgées (50 ans et plus), ce qui confirme que le dépistage en Algérie s'effectue tardivement et qu'il couvre un taux faible de la population cible.

D'autre part, ce travail de recherche a démontré l'intérêt du test HPV dans le diagnostic des anomalies et le suivi de nos patientes. Ce test a permis pour les femmes qui ont présenté un résultat négatif, une protection sûre et durable que la cytologie seule ne peut garantir. La présence de l'HPV était, en revanche, une alerte pour un suivi approprié. Il a permis aussi le triage des patientes avec des ASCUS ou des LSIL et de n'orienter en biopsie et colposcopie que les patientes qui ont présenté une infection à HPV. Chez les femmes examinées pour un suivi post-thérapeutique, ce test était apte à reconnaître les vraies lésions résiduelles ou récidivantes. Il a permis aussi de limiter les sur-diagnostic liés à une évaluation faussement positive par cytologie ou par colposcopie et par conséquent les sur-traitements.

En ce qui concerne l'étude de la comparaison des trois techniques d'HPV, il a été observé que la corrélation directe était loin d'être parfaite entre les tests. En effet, il n'existe pas de technique « Gold standard » comme méthode de détection ou de génotypage d'HPV, par conséquent, il est nécessaire de bien connaître le principe et les propriétés d'une technique avant son utilisation afin d'optimiser sa performance par rapport à l'objectif recherché. En effet, certains tests sont conçus et calibrés pour une grande sensibilité analytique alors que d'autres visent à optimiser les performances cliniques, la balance entre sensibilité et

spécificité cliniques ayant une importance cruciale dans le cadre du dépistage. De telles études de comparaison des tests HPV sont utiles pour valoriser leurs applications, surtout que c'est selon la distribution des génotypes observée dans les carcinomes et les lésions de haut ou de bas grade que les HPV ont été classifiés en groupe d'HPV à haut risque et groupe d'HPV à bas risque.

Il faut reconnaître que notre étude présente certaines limites, en particulier un effectif modeste et un biais de sélection. Des études complémentaires avec des effectifs plus larges seraient souhaitables afin d'affiner les données observées dans cette population :

➤ Des études concernant la performance des examens de dépistage, la lecture cytologique notamment, s'avèrent nécessaires vu le nombre élevé des sur-diagnostic en Algérie.

➤ Une analyse avec des critères respectant les protocoles proposés par les guidelines pour utilisation des tests HPV dans le dépistage permettent de mieux étudier les tests HPV et leurs applications.

➤ des études d'évaluation du rapport coût / efficacité d'un dépistage incluant le test HPV, permettrait de valoriser cette approche en Algérie ; la littérature économique internationale indique que la recherche d'HPV, associée à une cytologie, améliore les résultats de dépistage pour un coût raisonnable voire inférieur.

➤ une étude avec un statut immunitaire déterminé (taux de CD4+) permettrait de mieux caractériser l'infection à HPV chez les femmes séropositives au VIH. En Algérie, le taux de CD4+ est inconnu chez la majorité des femmes séropositives.

Dans le cadre de lutte contre l'infection à HPV et le cancer du col de l'utérus, nous voudrions proposer quelques recommandations:

➤ Le taux élevé de l'infection à HPV et des anomalies cytologiques, la réalisation du frottis tardivement et le taux de couverture faible démontrent que les résultats du dépistage organisé, lancé depuis 2001 en Algérie, ne sont pas à la hauteur des objectifs fixés. Une meilleure information, une bonne sensibilisation visant le corps médical et les femmes algériennes, une bonne pratique ainsi qu'une couverture plus adéquate du dépistage, permettraient de réduire de façon significative l'incidence de ce cancer et arriver à des taux de diminution similaires à ceux obtenus dans les pays développés.

➤ L'existence des sur-diagnostic constatés dans notre étude suggèrent que des efforts doivent être fournis à toute étape du dépistage depuis le prélèvement jusqu'à l'interprétation et le suivi des FCU pathologiques.

➤ la chute prévisible des performances de la cytologie impose peu à peu l'introduction du test HPV dans le dépistage du cancer du col de l'utérus, ce qui permettrait des résultats parfaitement prometteurs. L'expérience dans les pays développés a montré que des programmes qui combinaient ce test à la cytologie, pouvaient réduire considérablement l'incidence de ce cancer et le taux de mortalité associée.

➤ Le taux de l'infection HPV est essentiellement élevé chez les femmes séropositives ce qui suggère une surveillance gynécologique étroite et un suivi régulier chez ces femmes.

➤ L'arrivée des vaccins représente un énorme espoir en termes de prévention du cancer du col utérin. Elle est pratiquée à grande échelle dans les pays développés. La prédominance des HPV 16 et 18 parmi les patientes de cette étude, suggèrent que la vaccination des femmes en Algérie aurait un impact réel en termes de santé publique. Ceci est à une condition, que le vaccin vienne en complément du dépistage et qu'il ne puisse pas s'y substituer.

A la fin, chaque femme doit savoir que la présence d'HPV à risque n'est pas le facteur prépondérant pour développer un cancer du col. C'est en effet l'absence de dépistage qui est le facteur de risque principal de ce cancer. En effet, au vu des moyens disponibles, même un seul décès dû au cancer du col de l'utérus est un décès de trop.

Références Bibliographiques

**Publication
et liste des
Communications**

Original article

Characteristics of HPV infection in women at risk in Western Algeria

Caractéristiques de l'infection HPV chez des femmes à risque dans l'Ouest algérien

N. Masdoua^{a,*}, L. Boublenza^a, H. Hassaine^a, J. Ngou^b, A. Nahet^a, M. Segondy^b, F. Razik^c,
D. Regagba^d, N. Sadouki^e, D. Mouhammedi^e

^a Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agro-alimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE), université de Tlemcen, Ex. complexe biomédical, Imama, Bloc C, BP 119, 13000 Tlemcen, Algeria

^b Unité Inserm 1058, université de Montpellier, 34093 Montpellier, France

^c Service d'infectiologie, CHU d'Oran, Oran, Algeria

^d Service d'épidémiologie et de médecine préventive, CHU de Tlemcen, Tlemcen, Algeria

^e Laboratoire Herpès virus, papillomavirus et autres, département de virologie, institut Pasteur d'Algérie, Alger, Algeria

Received 12 November 2015; received in revised form 9 May 2016; accepted 14 September 2016

Available online 17 October 2016

Abstract

Objectives. – We aimed to characterize HPV infections and cervical lesions in Western Algeria.

Patients and methods. – A total of 96 cervical samples obtained from women at risk of HPV infection (HIV-1-infected or presenting with a gynecological disease) were analyzed to characterize this infection and search for cytological abnormalities.

Results. – A total of 60% of women at risk had an HPV infection. The rate of high-risk HPV (HR-HPV) infection among these women was 84.5% and that of intraepithelial lesions was 29.3%. The frequency of HPV infection was significantly higher among HIV-1-infected patients. An association between the presence of HR-HPV and the polygamy of the partner was observed. An association between cytological abnormalities and the use of oral contraceptives was observed among HIV-1-infected women.

Conclusion. – Given the high frequency of HPV infection in this at risk population, close monitoring and regular gynecological screening are essential.

© 2016 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Algeria; HPV; HIV-1

Résumé

Objectif. – Cette étude a pour objectif de caractériser les infections à HPV et les lésions du col utérin dans l'Ouest algérien.

Patientes et méthodes. – Au total, 96 prélèvements cervicaux de femmes à risque d'infection HPV (séropositives au VIH-1 ou présentant une pathologie gynécologique) ont été testés pour la recherche de HPV et l'analyse cytologique.

Résultats. – Soixante pour cent des femmes présentaient une infection à HPV. Le taux de HPV à haut risque (HR-HPV) parmi les femmes infectées était de 84,5 % et celui des lésions intraépithéliales était de 29,3 %. La fréquence d'infection HPV était significativement plus élevée chez les patientes séropositives au VIH-1. Une association entre la présence de HR-HPV et la polygamie du partenaire était observée. Parmi les patientes séropositives pour le VIH-1, une association entre les anomalies cytologiques et l'utilisation de contraceptifs oraux a été observée.

Conclusion. – Le taux de HPV étant élevé dans cette population à risque, une surveillance gynécologique étroite et un dépistage régulier de ces patientes sont indispensables.

© 2016 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Algérie ; HPV ; VIH-1

* Corresponding author.

E-mail address: aitsalemnabila@hotmail.com (N. Masdoua).

1. Introduction

Human papillomaviruses (HPV) are highly prevalent in the population. Approximately 80–90% of individuals are believed to have been infected by the virus during the course of their life [1].

These viruses with epithelial tropism are responsible for a wide variety of skin and mucosal lesions. There are approximately 100 characterized genotypes of the virus, but only 15 of them can lead to precancerous and cancerous lesions of the anal and genital mucous membranes. These genotypes are known as oncogenic or as high risk (HR) genotypes [2].

The persistent infection resulting from these HR-HPV genotypes is a necessary preliminary step towards cervical cancer [3]. HR-HPV genotypes are observed in more than 99% of cervical cancers [4,5]. This type of cancer is a real public health problem as it is the third most frequent cancer in women worldwide, and the first cause of female cancer in Africa [6].

The incidence of HPV infections, and especially of HR-HPV infections, is particularly high among HIV-1-infected women. Cervical cancer is the most frequent type of cancer in these women [7].

The prevention of cervical cancer relies on a conventional cytological screening as HPV tests and vaccines are not yet available in Algeria.

Very few studies focusing on cervical cancer and HPV infection have been conducted in Algeria [8,9], and the impact of a potential co-infection with HIV-1 has never been studied. We aimed to study HPV infections associated with cytological lesions observed in pap smears sampled from women at risk of infection, including HIV-1-infected women.

2. Patients and methods

We included 96 female patients considered at risk of HPV infection. A total of 64 women presenting with a gynecological disease were recruited at the private practices of Tlemcen, and 32 HIV-1-infected women were recruited at the reference center for STI/HIV/AIDS for Western Algeria.

Patients benefited from the following management:

- anamnesis to determine their social status and behavioral patterns;
- cervical and vaginal examination to look for cervical lesions;
- pap smear on a microscope slide for cytological examination;
- cervical sample on Preservcyt liquid medium (Hologic, Villepinte, France) for HPV detection and typing purposes.

Cytological results were interpreted on the basis of the Bethesda classification.

HPV detection and typing were performed using the DNA extracted from the Preservcyt medium samples. DNA extraction was performed using the automated extraction system NucliSENS easyMag[®] (Biomérieux, Craaponne, France) with the extraction kit for nucleic acids. HPV detection and genotyping were performed using the INNO-LiPA HPV Genotyping Extra kit (Fujirebio, Courtaboeuf, France), according to

Table 1

Social and demographic characteristics and behavioral patterns of patients infected with HPV in Western Algeria.

Caractéristiques sociodémographiques et habitudes comportementales de patientes infectées par le HPV dans l'Ouest Algérien.

<i>Characteristics</i>	
Mean age (min-max)	40.1 (23–72)
Mean age (min-max) of first sexual intercourse	20.3 (10–40)
<i>Marital status (n = 58)</i>	
Married	44 (75.9 %)
Divorced	5 (8.6 %)
Widow	6 (10.3 %)
Single	3 (5.2 %)
<i>Number of sexual partners (n = 53)</i>	
One	46 (86.8 %)
≥ 2 sexual partners	7 (13.2 %)
<i>Polygamy of partner (n = 53)</i>	
Yes	13 (24.5 %)
No	33 (62.3 %)
Unknown	7 (13.2 %)
<i>Number of pregnancies (n = 58)</i>	
0	3 (5.2 %)
1–3	29 (50 %)
> 3	26 (44.8 %)
<i>Previous abortions (n = 58)</i>	
Yes	20 (34.5 %)
No	38 (65.5 %)
<i>Oral contraceptives (n = 58)</i>	
Yes	33 (56.9 %)
No	25 (43.1 %)
<i>Pap smear (n = 58)</i>	
1st pap smear	49 (84.5 %)
Control pap smear	9 (15.5 %)
<i>Clinical aspect of the cervix (n = 58)</i>	
Normal	22 (37.9 %)
Abnormal	36 (62.1 %)
<i>Smoking status (n = 58)</i>	
Yes	2 (3.4 %)
No	56 (96.6 %)
<i>HIV-1-infected (n = 58)</i>	
No	34 (58.6 %)
Yes	24 (41.4 %)

previously described modalities [10,11]. This technique is able to identify 28 types of HPV, i.e. types 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 71, 73, 74, and 82, including multiple HPV infections [10].

Data analysis was performed using the SPSS software. Chi² test and odds ratio with 95% CI were used to test the associations between various parameters.

3. Results

A HPV infection was observed in 60% (58/94) of patients. Social and demographic characteristics, as well as behavioral patterns, of the patients are detailed in Table 1. Mean age was 40.1 years and mean age of first sexual intercourse was 20.3 years. Most of these women were married and had only one sexual partner; they had had three pregnancies on average; never had an abortion performed; did not smoke; had no clinical cervical abnormality; had a pap smear performed for the very first time during the study; and used oral contraceptives.

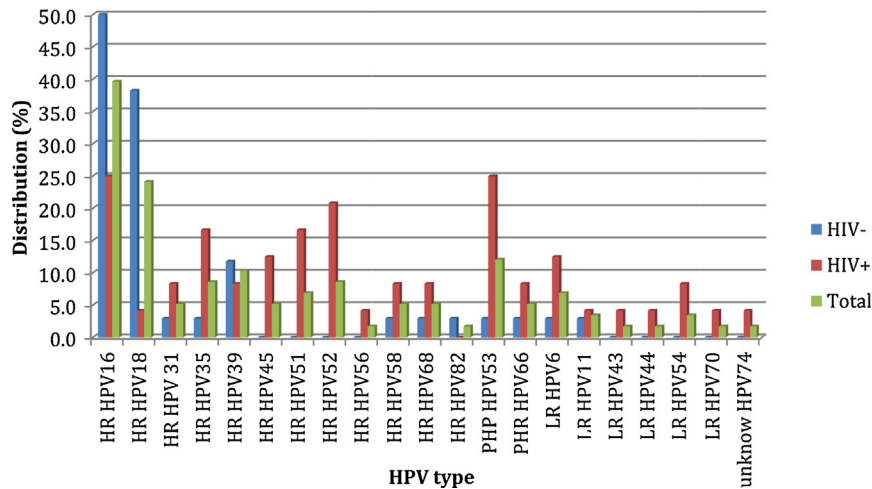


Fig. 1. Distribution of the various HPV genotypes in the study population.
Distribution des différents génotypes de HPV chez la population étudiée.

Table 2
HPV genotype distribution according to HIV-1 status.
Répartition des génotypes HPV selon le statut VIH-1.

HPV types	Total (n = 58) (%)	HIV-1– (n = 34) (%)	HIV-1+ (n = 24) (%)	P	OR (95 % CI)
HPV 16	23 (39.7)	17 (50)	6 (25.0)	0.055	0.3 (0.1–1.1)
HPV 18	14 (24.1)	13 (38.2)	1 (4.2)	0.003	0.1 (0.01–0.5)
HR-HPV other than 16 and 18	27 ^a (46.6)	10 (29.4)	17 (70.8)	0.002	5.8 (1.9–18.4)
pHR-HPV ^b	10 (17.2)	2 (5.9)	8 (33.3)	0.006	8 (1.5–42.1)
LR-HPV	11 (19)	3 (8.8)	8 (33.3)	0.019	5.2 (1.2–22.2)
Multiple HPV	22 (37.9)	8 (23.5)	14 (58.3)	0.007	4.6 (1.5–14.6)

^a The total number is higher than the number of HR-HPV infections because of multiple HR-HPV infections.

^b Genotypes 26, 53, and 66 were considered potentially high risk genotypes (pHR-HPV) according to Munoz et al. N Engl J Med 2003;348:518–27.

The results of the cytological examinations revealed abnormalities in 29.3% (17/58) of HPV infected women. Cytological abnormalities included: three (5.2%) atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US), 10 (17.2%) low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL), and four (6.9%) high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL).

As HR-HPV genotypes are observed in 84.5% (49/58) of HPV infections, HPV 16 and/or 18 are observed in 50% of infections. We identified 20 types of HPV, the most frequent being HPV 16 (39.7%), HPV 18 (24.1%), HPV 53 (12.1%), HPV 39 (10.3%), HPV 35 and HPV 52 (8.6%) (Fig. 1). Multiple HPV infections (two to four types) accounted for 37.9% (22/58) of HPV infections. At least one HR-HPV genotype was observed in 95.5% (21/22) of these multiple infections, with HPV 16 and/or 18 observed in 59.1% (13/22) of cases.

The HPV infection rate was significantly higher among women whose pap smears yielded cytological abnormalities than among women with a normal pap smear (83.3% vs 54.5%, OR = 4.2; CI: 1.12–15.57; $P = 0.025$).

The prevalence of HR-HPV and LR-HPV (low risk) infections was significantly higher among HIV-1-infected women. However, no significant difference was observed between the two groups for the prevalence of HPV 16 (Table 2). No

significant difference was observed in terms of cytological abnormalities prevalence between HIV-1-infected women (6/24, 25%) and women non-infected with HIV-1 (10/34, 29.4%).

The rate of multiple HPV infections was 58.3% in HIV-1-infected women and 23.5% in women non-infected with HIV-1 (OR = 4.6; CI: 1.5–14.6; $P = 0.007$), with a higher number of HPV types (median = 3) in HIV-1-infected women than in women non-infected with HIV-1 (median = 2) ($P = 0.003$).

No relation between the development of high-grade lesions and the risk factors mentioned in the literature was observed in our study. However, we observed a relation between the presence of a HR-HPV infection and the polygamy of the partner ($P = 0.014$). We also observed an association among HIV-1-infected women between the presence of cytological abnormalities and the use of oral contraceptives ($P = 0.033$).

4. Discussion

To our knowledge, this is the first study focusing on HPV infections in Western Algeria and the first one to include HIV-1-infected patients in Algeria.

The HPV infection rate of approximately 85% that we observed in patients with abnormal pap smears is consistent with data obtained from meta-analyses [12].

HPV 16 and HPV 18 were the most frequent HR-HPV genotypes observed in our patients. They are also associated with the highest risk of progression to cervical cancer [1]. These genotypes are also targeted by the HPV vaccine and our results, although obtained with a small number of patients, suggest that vaccinating women in Algeria could have a real impact in terms of public health.

Consistent with data observed in the literature, we observed a higher prevalence of HR-HPV infections and of multiple HPV infections in HIV-1-infected women. This higher rate is mainly observed in HR-HPV infection caused by genotypes other than HPV 16 and 18, which is also consistent with previously published data [13–16].

We observed a significant association between HR-HPV infection and the polygamy of the partner. This has been defined as a risk factor in Algeria [8]; it highlights that the risk of developing cervical cancer for women is as much associated with their own sexual behavior as with that of their partner [17]. We also observed an association between cytological abnormalities and the use of oral contraceptives, especially among HIV-1-infected patients. Oral contraceptives are a well-known risk factor for cervical lesions [18].

Our study results thus highlight a high prevalence of HPV infections and cytological abnormalities of the cervix among women of Western Algeria who consulted for gynecological reasons or who were HIV-1-infected. Preventive measures should therefore be implemented in Algeria, such as HPV screening and vaccination.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

Acknowledgement

We would like to thank all individuals who contributed to the article: L. Boublenza wrote the study protocol and contributed to collecting samples. H. Hassaine supervised the study. J. Ngou contributed to the virological study. A. Nahet contributed to collecting samples and to the data analysis. M. Segondy supervised the virological study and contributed to writing the article. F. Razik performed the pap smears in HIV-1-infected patients. D. Regagba performed the statistical analysis. N. Sadouki and D. Mouhammedi contributed to writing the study protocol.

We would also like to thank Dr Riad Benahbib for contributing to pap smear collection, and Dr Chahinez Baba Ahmed and Dr Zineb Sari Hassoune for contributing to the cytological analysis.

References

- [1] Bosch X, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. *Vaccine* 2013;31(Suppl. 7):H1–31.
- [2] Molijn A, Kleter B, Quint W, van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl. 1):S43–51.
- [3] Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(Suppl. 1):12–9.
- [4] ZurHausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers: a brief historical account. *Virology* 2009;384(Suppl. 2):260–5.
- [5] Munoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, et al. The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int J Cancer* 1992;52(Suppl. 5):743–9.
- [6] Denny L, Anorlu R. Cervical cancer in Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(Suppl. 9):1434–8.
- [7] Massad LS, Silverberg MJ, Springer G, Minkoff H, Hessel N, Palefsky JM, et al. Effect of antiretroviral therapy on the incidence of genital warts and vulvar neoplasia among women with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190(Suppl. 5):1241–8.
- [8] Hammouda D, Munôz N, Herrero R, Arslan A, Bouhadeh A, Oublil M, et al. Cervical carcinoma in Algiers, Algeria: Human Papillomavirus and lifestyle risk factors. *Int J Cancer* 2005;113:483–9.
- [9] Hammouda D, Clifford GM, Pallardy S, Ayyach G, Chékiri A, Boudrich A, et al. Human papillomavirus infection in a population-based sample of women in Algiers, Algeria. *Int J Cancer* 2011;128:2224–9.
- [10] Didelot-Rousseau MN, Courgnaud V, Nagot N, Ouedraogo A, Konate I, Mayaud P, et al. Comparison of INNO-LiPA HPV genotyping v2 with PCR product subcloning and sequencing for identification of genital human papillomavirus genotypes in African women. *J Virol Methods* 2006;135(Suppl. 2):181–5.
- [11] Ngou J, Gilham C, Omar T, Gombri-Lompo O, Doutre S, Michelow P, et al. Comparison of analytical performances of the digene HC2 HPV DNA assay and the INNO-LiPA HPV genotyping assay for detecting high-risk HPV infection and cervical neoplasia among HIV-positive African women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2015;68(Suppl. 2):162–8.
- [12] Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjosé S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;26(Suppl. 10):K1–16.
- [13] Didelot-Rousseau MN, Nagot N, Costes-Martineau V, Vallès X, Ouedraogo A, Konate I, et al. Human papillomavirus genotype distribution and cervical squamous intraepithelial lesions among high-risk women with and without HIV-1 infection in Burkina Faso. *Br J Cancer* 2006;95(Suppl. 3):355–62.
- [14] Luque AE, Jabeen M, Messing S, Lane CA, Demeter LM, Rose RC, et al. Prevalence of human papillomavirus genotypes and related abnormalities of cervical cytological results among HIV-1-infected women in Rochester, New York. *J Infect Dis* 2006;194(Suppl. 4):428–34.
- [15] Clifford GM, Goncalves MAG, Franceschi S. Human papillomavirus types among women infected with HIV: a meta-analysis. *AIDS* 2006;20(Suppl. 18):2337–44.
- [16] Sahasrabudde VV, Mwanahamuntu MH, Vermund SH, Huh WK, Lyon MD, Stringer JSA, et al. Prevalence and distribution of HPV genotypes among HIV-infected women in Zambia. *Br J Cancer* 2007;96(Suppl. 9):1480–3.
- [17] Bosch FX, Castellsagué X, Muñoz N, de Sanjosé S, Ghaffari AM, González LC, et al. Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst* 1996;88(Suppl. 15):1060–7.
- [18] Smith JS, Green J, Berrington G, Appleby P, Peto J, Plummer M, et al. Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet* 2003;361(Suppl. 9364):1159–67.



الشبكة الجزائرية للأكاديميين والعلماء و الباحثين
Algerian Network for Academics, Scientists & Researchers

HONOURABLE MENTION

This Certifies that

*Masdoua, N., L. Boublenza, H. Hassaine, J. Ngou, A. Nahet, M. Segondy,
F. Razik, D. Regagba, N. Sadouki, and D. Mouhammedi.*

*Have received an Honourable Mention in the 2017 Algerian Paper of the Year Awards in the category
of Life Sciences, for their paper:*

**“CHARACTERISTICS OF HPV INFECTION IN WOMEN AT RISK IN
WESTERN ALGERIA”**

4 September 2017

DATE

Dr. Oussama Metatla

CHAIR

Articles publiés

Nahet A., Boublenza L., Hassaine H., Hoceini A., Zilabdi M., Masdoua N. (2015). Étude rétrospective de l'évaluation des activités de dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus dans une région du sud d'Alger entre 2008 et 2011. *JAC*; 7: 168-72.

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. *Bull Cancer* ; 103 (5) : 455-60.

Communications

- Masdoua N., Boublenza L., Nahet A., Hassaine H., Bellifa S., Kara Terki I., Segondy M., Razik F., Regagba D., Chabni N., Sadouki N. (2018).** Prevalence, distribution of HPV genotypes and cervical lesion in women infected or not infected with HIV-1 in western Algeria. *International Conference on Microbiology & Infectious Diseases. Rome, Italy.*
- Masdoua N., Boublenza L., Hassaine H., Nahet A., Razik F., Segondy M. (2013).** Screening for cervical cancer by HPV genotyping in women HIV infection in Western Algeria. *4th International Workshop on Biotechnology. Tlemcen, Algeria.*
- Masdoua N., Boublenza L., Hassaine H., Beldjilali H., Boulenouar F. (2012).** Détection de l'HPV, agent causal du cancer du col utérin. *28^{ème} Congrès National de la SAEM. Alger, Algérie.*
- Masdoua N., Boublenza L., Hassaine H., Nahet A., Razik F., Bellifa S., Kara Terki I., M'hamedi I., Lachachi M., Segondy M. (2013).** HPV genotyping in women infected by HIV in Western Algeria. *Journées Virus et Cancer. Tlemcen, Algérie*
- Masdoua N., Boublenza L., Boughermouh A., Hassaine H. Sadouki N. (2011).** Dépistage u cancer u col utérin par le test HPV. *Société Algérienne d'Oncologie Médicale. Constantine, Algérie.*
- Masdoua N., Boublenza L., Hassaine H. Sadouki N. Beldjilali H., Boulenouar F., Hadeff K. (2011).** Test HPV : technique pour une meilleure optimisation du dépistage du cancer du col utérin. *Journée : Papillomavirus et tumeurs associées Alger, Algérie.*
- Masdoua N., Boublenza L., Boughermouh A., Hassaine H., Sadouki N. (2010).** Le test HPV et sa place ans le dépistage du cancer du col utérin. *2^{ème} Journées de chirurgie de l'HMRU/5^{ème} RM. Constantine, Algérie.*
- Masdoua N., Boublenza L., Hassaine H., Sadouki N., Boughermouh A. (2010).** La recherche u Papillomavirus Humain dans le dépistage du cancer du col utérin. *Premières journées Aurassienne de Médecine. Batna, Algérie.*
- Masdoua N., Boublenza L., Boughermouh A., Hassaine H. (2010).** Apport du test HPV et dépistage du cancer du col utérin. *15^{ème} congrès Maghrébin de Fertilité et de Contraception. Alger, Algérie.*

Annexes

Annexe 1 : classification de Bethesda [(Monsonogo, 2006) ; (OMS, 2007)]

QUALITÉ DU PRÉLÈVEMENT

- Satisfaisant pour évaluation
- Non satisfaisant pour évaluation (préciser la raison)

INTERPRÉTATION/RÉSULTAT

- Absence de lésion malpighienne intra-épithéliale ou de signe de malignité (Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy).

S'il y a lieu, préciser :

- présence de micro-organismes : Trichomonas vaginalis ; éléments mycéliens, par exemple évoquant le candida ; anomalies de la flore vaginale évoquant une vaginose bactérienne ; bactéries de type actinomyces; modifications cellulaires évoquant un herpès simplex;
- autres modifications non néoplasiques : modifications réactionnelles (inflammation, irradiation, ou présence d'un dispositif intra-utérin) ; présence de cellules glandulaires bénignes post-hystérectomie ; atrophie.
- Anomalies des cellules malpighiennes :
 - atypies des cellules malpighiennes (ASC) : de signification indéterminée (ASC-US) ou ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade (ASC-H);
 - lésion malpighienne intra-épithéliale de bas grade (LSIL), regroupant koïlocytes/dysplasie légère/CIN1;
 - lésion malpighienne intra-épithéliale de haut grade (HSIL), regroupant dysplasies modérée et sévère, CIS/CIN2 et CIN3. Le cas échéant présence d'éléments faisant suspecter un processus invasif (sans autre précision);
 - carcinome malpighien.
- Anomalies des cellules glandulaires :
 - atypies des cellules glandulaires (AGC) : endocervicales, endométriales ou sans autre précision (Not Other Specified);
 - atypies des cellules glandulaires en faveur d'une néoplasie : endocervicales ou sans autre précision (Not Other Specified);
 - adénocarcinome endocervical in situ (AIS);
 - adénocarcinome.
- Autres (liste non limitative) :
 - cellules endométriales chez une femme âgée de 40 ans ou plus.

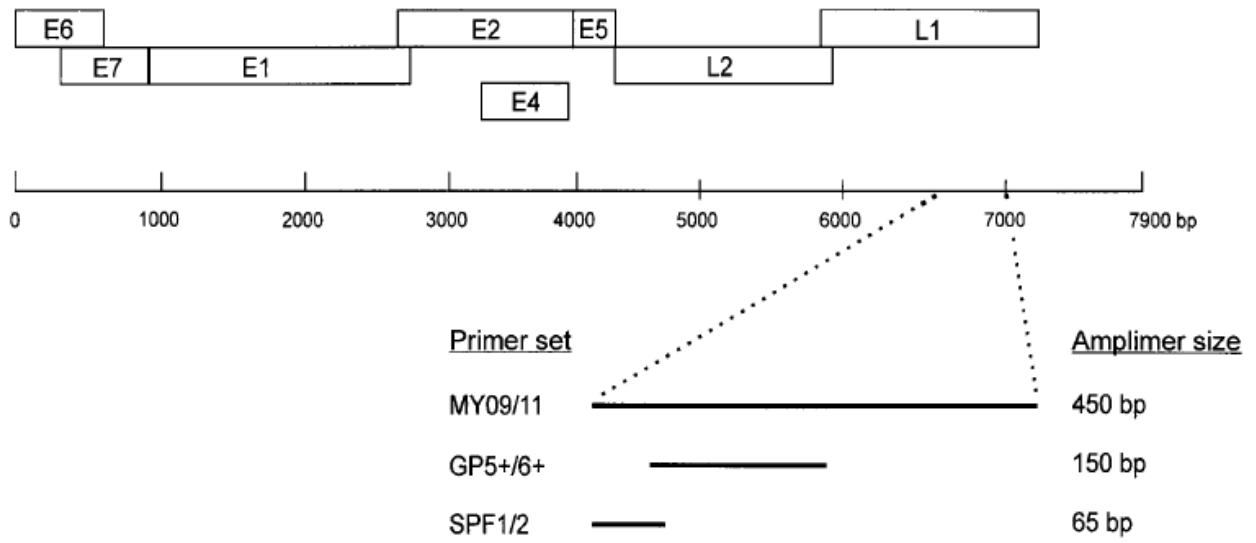
Préciser si l'examen est automatisé et si la recherche des HPV a été réalisée.

Notes et recommandations concises, formulées en termes de suggestions, et si possible accompagnées de références.

Annexe 2 : Catégories cliniques et définitions du sida selon les classifications du CDC (CDC, 1993)

<u>Catégorie A</u>	<p>Un ou plusieurs critères listés ci dessous, s'il n'existe aucun des critères des catégories B et C :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Infection VIH asymptomatique - Lymphadénopathie généralisée persistante - Primo-infection symptomatique
<u>Catégorie B</u>	<p>Manifestations cliniques ne faisant pas partie de la catégorie C et qui répondent au moins à l'une des conditions suivantes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - elles sont liées au VIH ou indicatives d'un déficit immunitaire - elles ont une évolution clinique ou une prise en charge thérapeutique compliquée par l'infection VIH <p>Les pathologies suivantes font partie de la catégorie B (liste non limitative) :</p> <ul style="list-style-type: none"> - candidose oropharyngée - candidose vaginale, persistante, fréquente ou qui répond mal aux traitements - listériose - dysplasie du col ou carcinome <i>in situ</i> - zona récurrent (>2 épisodes) - purpura thrombocytopénique idiopathique - salpingite - etc.
<u>Catégorie C</u>	<p>Cette catégorie correspond à la définition du SIDA. Lorsqu'un patient a présenté une des pathologies, il est classé définitivement dans la catégorie C :</p> <ul style="list-style-type: none"> - candidose bronchique, trachéale, pulmonaire ou de l'oesophage. - cancer cervical invasif - coccidioïdomycose, disséminée ou extrapulmonaire - cryptococcose extrapulmonaire - cryptosporidiose intestinale - infection à CMV (autre que foie, rate ou ganglions) - rétinite à CMV - encéphalopathie due au VIH - infection herpétique, ulcères chroniques, supérieur à un mois ou bronchique, pulmonaire ou oesophagienne - histoplasmosse disséminée ou extrapulmonaire - isosporidiose intestinale chronique - sarcome de kaposi - lymphome de Burkitt - lymphome immunoblastique - lymphome cérébral primaire - infection à <i>Mycobacterium avium</i> ou <i>kansasii</i> disséminé ou extrapulmonaire - infection à <i>Mycobacterium tuberculosis</i> quelque soit le site - infection à mycobactérie, identifiée ou non, disséminée ou extrapulmonaire - pneumonie à <i>Pneumocystis jirovecii</i> - pneumopathie bactérienne récurrente - leucoencéphalopathie multifocale progressive - septicémie à <i>Salmonella</i> non <i>typhi</i> récurrente - toxoplasmose cérébrale - syndrome cachectique dû au VIH

Annexe 3 : localisations des amorces MY 09/11, GP51 / 61 et SPF 10 sur le génome de l'HPV (Kleter et al., 1999)



Annexe 4 : bilans annuels du Laboratoire National de Référence VIH/sida de l'Institut Pasteur d'Algérie (LNR, 2019)

INSTITUT PASTEUR D'ALGÉRIE
LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE VIH/SIDA

Relevé des cas de sida et séropositifs de 1985 au 31 mars 2019

Du 1^{er} janvier 31 mars 2019

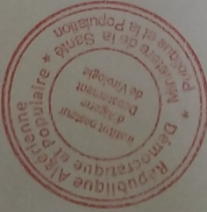
NOUVEAUX CAS DE SIDA :	<u>9</u>
NOUVEAUX CAS DE SEROPOSITIFS :	<u>298</u>

Total cumulatif de 1985 au 31 mars 2019

CAS DE SIDA :	<u>1911</u>
CAS DE SEROPOSITIFS :	<u>10 723</u>

Date : 08/04/2019
Le responsable

**LABORATOIRE NATIONAL DE RÉFÉRENCE
DE L'INFECTION VIH / SIDA**



Annexe 5 : Fiche de renseignements des patientes qui ont participé dans l'étude

Dépistage du cancer du col de l'utérus

Wilaya : Centre de prélèvement : Unité de dépistage :
 N° du dossier : Fait par : Date : /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/
 Nom de Jeune fille : Prénom : Nom de l'époux :
 Age : /_/_/ /_/_/ Fonction : Fonction de l'époux :
 Adresse : Tél :

Gestation : /_/_/ Parité : /_/_/ ABRT : /_/_/ Ménopause depuis
 Contraception : Orale DIU Autres
 Age du 1^{er} rapport : /_/_/ Nombre de partenaire : de la patiente de l'époux
 Tabagisme : Actif , Passif
 Antécédents gynécologiques : Généraux :
 Thérapeutique : Hormonale Chimiothérapie Radiothérapie
 Motif de consultation :
 Frottis de dépistage Frottis de contrôle Frottis post opératoire
 N° du frottis antérieur : Lieu : Résultat :
 Signes cliniques : Aspect du col :

DIAGNOSTIC CYTOPATHOLOGIQUE

N° DU FROTTIS.....

- **QUALITE DU PRELEVEMENT** : Satisfaisant Ininterprétable , causes.....
 Limité par : Inflammation Absence de cellules glandulaires Absence de mucus
 Absence de cellules métaplasiques autres
- **CYTOLOGIE NORMALE**
- **ABSENCE DE LESIONS NEOPLASIQUES** :
 - Cytologie inflammatoire : Trochomonas Mycose Bactérie autres
 - Modifications réactionnelles : - Secondaire à :
 Inflammation Atrophie Irradiations DIU Ectropion Autres
 - A type de : Métaplasie autres
- **LESIONS INTRA-EPITHELIALES OU INVASIVES** :
 - Anomalies des cellules épithéliales squameuses :
 ASC-US ASC-H Lésions de bas grade Lésions de haut grade
 Carcinomes épidermoïde HPV
 - Anomalies des cellules épithéliales glandulaires :
 GUAS Adénocarcinome Autres
 - Autres néoplasies malignes :

CONCLUSION :

RECOMMANDATIONS :

- Refaire dans les meilleurs délais 06 mois après traitement
- Orienter vers le service de gynécologie colposcopie biopsie
- Refaire le frottis dans : 01 an dans 03 ans dans 05 ans

Date : /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/ /_/_/

Cytopathologiste

Superviseur

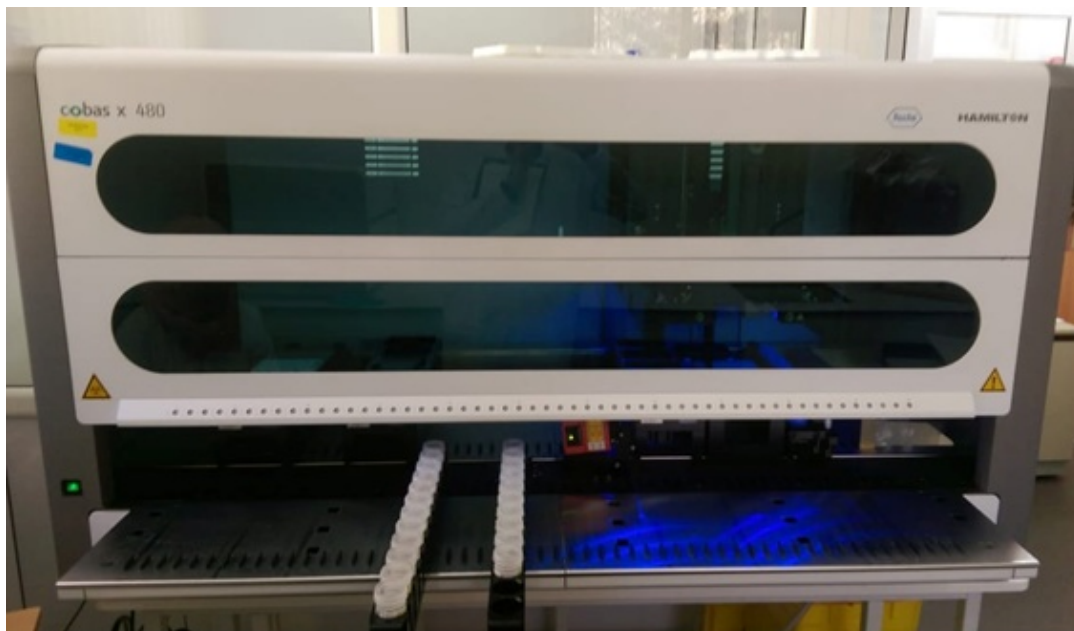
Annexe 6 : Auto-LiPA 48® (Tecan)



Annexe 8 : kit d'extraction, d'amplification et de détection de Amplicor® HPV Test



Annexe 9 : instrument Cobas x 480



Annexe 10 : la conduite à tenir devant un frottis anormal ; recommandée en Algérie par la Direction Générale des Structures de Santé (DGSS, 2016)

- **Frottis avec atypies des cellules malpighiennes (ASC)**

ASC-H : colposcopie d'emblée

ASC-US : 3 possibilités:

- colposcopie;
- test HPV ou
- cyto surveillance.

- **Frottis avec lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade (LSIL)**

- colposcopie d'emblée
- frottis de contrôle 4 à 6 mois
 - si négatif: surveillance à 6mois puis 1 an
 - si persistance de la lésion: colpo/biopsie

- **Frottis avec lésion malpighienne intra épithéliale de haut grade(HSIL)**

Frottis HSIL = colposcopie d'emblée.

- 2^{ème} frottis : inutile et dangereux;
- Biopsies dirigées +/- curetage endo cervical selon la situation de la zone de jonction:
Si colposcopie non satisfaisante ou biopsies négatives : discuter conisation diagnostique

- **Frottis avec anomalies des cellules glandulaires(AGC)**

Quelles que soient les anomalies des cellules glandulaires: colposcopie avec biopsie dirigée et/ou curetage de l'endocol

- Si anomalies des cellules glandulaires de type endométrial : contrôle histologique de l'endomètre
 - en cas d'anomalies cytologiques de type adénocarcinome in situ (AIS) ou adénocarcinome (endocervical, endométrial ou d'origine non précisée) ou suggérant une néoplasie : conisation diagnostique associée a un curetage de l'endomètre.



ملخص

إن سرطان عنق الرحم، الذي يشكل السبب الثالث لوفيات بالسرطان بين النساء في الجزائر، ينجم ضروريا عن الإصابة بفيروس الورم الحليمي البشري (HPV). الهدف الأولي من هذه الأطروحة هو دراسة خصائص عدوى فيروس الـ HPV عند النساء المعرضات لخطر الإصابة بسرطان عنق الرحم (النساء المصابات بفيروس نقص المناعة البشرية VIH و / أو أمراض النساء) في غرب الجزائر، ذلك باستخدام اختبار التنميط الجيني HPV INNO-LiPA. من ناحية أخرى، تم إجراء تقييم لاستعمال اختبار Amplicor HPV المبكر لسرطان عنق الرحم وكذلك مقارنة بين اختبارات HPV الثلاثة: INNO-LiPA، Cobas، و Amplicor. أظهر اختبار الـ INNO-LiPA لدى 96 عينة من عنق الرحم التي من بينها 32 عينة لنساء مصابات بـ VIH والتي تشكل تشوهات الخلية 18,9% من العينات، أن الـ HPV متواجد في 60% من العينات و الـ HPV ذو الخطورة الكبيرة (HR-HPV) في 51,6%. كان HPV16 و HPV18 أكثر الأنواع انتشارا في هذه الدراسة. كانت نسبة فيروس HPV أعلى بكثير لدى المصابات المصابات بـ VIH مقارنة بباقي المصابات (OR = 2,7, IC à 95% : 1,1 - 7,1). قدرت نسبة الـ HR-HPV التي كشفت عنها اختبار Amplicor لدى 76 مريضة من ولاية تلمسان بـ 17,1%. بفضل دمج اختبار في التشخيص المبكر لسرطان عنق الرحم، ووجه إلى التنظير المهبل فقط التشوهات الخلوية المرفوقة بنتائج إيجابية لـ HPV، ومدد وقت المراقبة لمدة 3 أو 5 سنوات بالنسبة إلى العينات الطبيعية السلبية لـ HPV و تم إظهار وجود إفراط في التشخيص عن طريق كل من الدراسة الخلوية و التنظير المهبلي. أظهرت المقارنة بين الاختبارات الثلاثة: INNO-LiPA، Cobas، و Amplicor أن العلاقة المباشرة كانت بعيدة عن الكمال. كان الاتفاق بين INNO-LiPA و Cobas ($K = 0.116, p = 0.001$). أضعف من الذي بين Cobas و Amplicor ($K = 0.667; p = 0.250$) وبين INNO-LiPA و Amplicor ($K = 0.556; p = 0.125$). وقد وجد أيضا أن INNO-LiPA كان أكثر حساسية من Cobas ولكنه أقل دقة. أظهرت هذه الدراسة ارتفاع معدل الإصابة بعدوى فيروس الورم الحليمي البشري والتشوهات الخلوية في عنق الرحم بين النساء في غرب الجزائر خاصة المصابات بفيروس نقص المناعة البشرية، مما يستدعي اتخاذ تدابير وقائية أكثر صرامة. سيادة HPV 16 و HPV 18، وهما الأنماط الجينية المستهدفة بالتطعيم، وفضل مساهمة اختبار الـ HPV في تشخيص التشوهات الخلوية، لدى المرضى الذين شملتهم الدراسة، تشير إلى أن التطعيم ضد HPV وإدخال اختبار الـ HPV في الفحص المبكر لسرطان عنق الرحم سيكون له تأثير حقيقي من حيث الصحة العامة. بالإضافة إلى ذلك، سيكون مثيرا للاهتمام معرفة خصائص اختبارات الـ HPV لأن بعض الاختبارات تهدف إلى تحسين التشخيص المبكر بينما اختبارات أخرى، بحساسيتها العالية، تُعتبر أكثر ملائمة للاستخدام في البحث العلمي والدراسات الوبائية.

الكلمات الأساسية: فيروس الورم الحليمي البشري، سرطان عنق الرحم، فيروس نقص المناعة البشرية، اختبار فيروس الورم الحليمي البشري، علم الخلايا



Résumé

Le cancer du col de l'utérus, qui constitue la troisième cause de mortalité par cancer chez la femme en Algérie, est nécessairement causé par le papillomavirus humain (HPV). L'objectif préliminaire de ce travail de thèse est de caractériser en utilisant le test INNO-LiPA HPV Genotyping, l'infection à HPV chez les femmes à risque de développer une lésion cervicale; soit des femmes infectées par le Virus de l'Immuno-déficience Humain (VIH) et/ou présentant une pathologie gynécologiques, dans l'Ouest algérien. D'autres parts, une évaluation de l'apport clinique du test Amplicor HPV HR dans le dépistage du cancer du col ainsi qu'une comparaison des trois tests HPV: INNO-LiPA, Cobas et Amplicor ont été réalisés.

L'analyse par INNO-LiPA de 96 prélèvements cervicaux, dont 32 appartenant à des femmes séropositives au VIH et dont les anomalies cytologiques constituaient 18,9% des prélèvements, a révélé que l'HPV était retrouvé dans 60,0% des prélèvements et l'HPV à haut risque (HR-HPV) dans 51,6%. L'HPV16 et l'HPV18 ont constitué les types les plus prévalents. Le taux des HPV était significativement plus élevé chez les patientes séropositives au VIH (OR=2,7, IC à 95% : 1,1 - 7,1). L'introduction du test Amplicor HR HPV dans le dépistage de 76 patientes de la Wilaya de Tlemcen, a démontré que l'HR-HPV était présent dans 17,1% des échantillons. Ce test a permis de n'orienter vers la colposcopie que les anomalies cytologiques positives pour l'HPV, d'allonger le contrôle à 3 ou 5 ans pour les Frottis normaux négatifs à l'HPV, d'indiquer l'existence d'un sur-diagnostic par cytologie et de limiter les surdiagnostics liés à la colposcopie. La comparaison des trois tests INNO-LiPA, Cobas et Amplicor a démontré que la corrélation directe était loin d'être parfaite. La mesure d'accord entre INNO-LiPA et Cobas ($K=0,116; p=0,001$) était plus basse que celles entre INNO-LiPA et Amplicor ($K=0,556; p=0,125$) et entre Cobas et Amplicor ($K=0,667; p=0,250$). Il a été constaté aussi que l'INNO-LiPA était plus sensible que Cobas mais moins spécifique.

Cette étude montre un taux élevé des infections à HPV et des anomalies cytologiques du col utérin chez les femmes de l'Ouest Algérien consultant en gynécologie ou séropositives pour le VIH, ce qui fait appel à des mesures de prévention plus strictes. La prédominance des HPV 16 et 18, les deux génotypes ciblés par vaccination, et l'apport du test HPV dans le diagnostic et le suivi des anomalies, chez les patientes étudiées, suggèrent que la vaccination anti-HPV et l'introduction du test HPV dans le dépistage auraient un impact réel en termes de santé publique. Par ailleurs, il serait intéressant de connaître les propriétés des tests HPV car certains visent à optimiser les performances cliniques dans le dépistage alors que d'autres, avec leur grande sensibilité, sont plus appropriés à être utilisés dans la recherche scientifique et les enquêtes épidémiologiques.

Mot clé : HPV, cancer du col, VIH, test HPV, cytologie cervicale



Summary

Cervical cancer, the third leading cause of cancer death in women in Algeria, is necessarily caused by Human Papillomavirus (HPV). The purpose of this thesis is to characterize HPV infection in women at risk of developing cervical lesion: women infected by the Human Immunodeficiency Virus (HIV) and / or having a gynecological pathology, in western Algeria; this by using the INNO-LiPA HPV Genotyping test. On the other hand, an evaluation of the clinical contribution of the Amplicor HPV test in cervical cancer screening as well as a comparison of the three HPV tests: INNO-LiPA, Cobas and Amplicor were performed.

The INNO-LiPA analysis of 96 cervical specimens, including 32 belonging to HIV infected women and whose cytological abnormalities constituted 18.9% of the samples, revealed that HPV was found in 60.0% of the samples and that high risk HPV (HR-HPV) in 51.6%. HPV16 and HPV18 were the most prevalent types. HPV was significantly higher in HIV-positive patients (OR = 2.7, 95% CI: 1.1-7.1). The introduction of the Amplicor HPV test in screening of 76 patients from Tlemcen, demonstrated that HR-HPV was present in 17.1% of the samples. The use of the HPV test allowed to guide to colposcopy only cytological abnormalities with positive HPV, to extend the control to 3 or 5 years for normal smear with negative HPV, to indicate the existence of a over-diagnosis by cytology and to limit overdiagnosis related to colposcopy. The comparison of the three INNO-LiPA, Cobas and Amplicor tests showed that the direct correlation was far from perfect. The agreement between INNO-LiPA and Cobas ($K = 0.116, p = 0.001$) was lower than that between INNO-LiPA and Amplicor ($K = 0.556, p = 0.125$) and between Cobas and Amplicor ($K = 0.667; p = 0.250$). It was also found that INNO-LiPA was more sensitive than Cobas but less specific.

This study shows a high rate of HPV infections and cervical cytology abnormalities among women in western Algeria consulting gynecology or women infected by HIV, which calls for stricter prevention measures. The predominance of HPV 16 and 18, the two genotypes targeted by vaccination, and advantage of HPV test contribution in the diagnosis of abnormalities, in this study, suggest that HPV vaccination and introduction of the HPV test in screening would have a real impact in terms of public health. Moreover, it would be interesting to know the properties of HPV tests because some aim to optimize the clinical performance in the screening while others, with their high sensitivity, are more suitable for use in scientific research and epidemiological survey.

Keyword: HPV, cervical cancer, HIV, HPV test, cervical cytology