

Ministère de l'enseignement supérieur
et de la recherche scientifique

République du Mali

Un peuple Un But Une Foi

Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako



U.S.T.T-B

Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie



Année Universitaire 2017-2018

Thèse N°/

THEME

**GENOTYPAGE DES VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN (VPH/HPV)
DANS LES LESIONS PRECANCEREUSES ET CANCEREUSES DU
COL UTERIN À BAMAKO (MALI).**

THESE :

**Présentée et soutenue publiquement le 07/06/2018 devant la Faculté de
Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS)**

par : Amadi Amadou SOW

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

COMPOSITION DU JURY :

PRESIDENT : Pr KAMATE Bakarou

MEMBRE : Dr COULIBALY Bourama

CO-DIRECTEUR DE THESE : Dr SISSOKO Sidi Boula

DIRECTEUR DE THESE : Pr TRAORE Cheick Bougadari

DEDICACE

Je dédie ce travail :

Au Bon DIEU ALLAH, le Tout Miséricordieux, Très-Miséricordieux, l'Omniscient, l'Omnipotent, l'Omniprésent ici-bas Créateur de la terre et des cieux, de la vie et de l'au-delà pour m'avoir donné la santé et le courage de venir à bout de ce travail.

Et à son Prophète Mohamed (paix et salut sur lui, sa pieuse famille et ses fidèles compagnons).

A mon père : Amadou SOW

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soient-elles ne sauraient t'exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite.

Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont un soutien indispensable, une autre leçon de vie.

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.

Papa, saches que je ne saurai jamais te rendre un hommage à la hauteur de tes efforts consentis. Au nom de mes frères et sœurs, je te dis encore merci, un grand merci pour tout. Que Dieu le Tout Puissant te préserve, t'accorde la santé, le bonheur, la quiétude de l'esprit et te protège de tout mal !

A mes deux mères : Mariam SIBY et Oualifa SANGARE

Affables, honorables, aimables : vous représentez pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple de dévouement, vous qui n'avez cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Vos prières et bénédictions m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer vos mérites surtout les sacrifices que vous n'avez cessé de me vouer depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Vous avez fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants puissent suivre le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le Tout Puissant vous préserver et vous accorder la santé, une longue vie et le bonheur !

A mes défunts parents : Assitan TRAORE, ma grand-mère et Hamidou SOW mon frère

J'aurai voulu que vous soyez présents aujourd'hui parmi nous, mais Dieu en a décidé autrement.

Depuis votre disparition, nous n'avons jamais cessé de penser à vous.

Je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis AMEN !

A mon oncle : Tonton Sorry KOUROUMA et Tonton Samba SIBY et familles

Meilleur que vous, je n'en connais pas. Je ne pourrai jamais exprimer le respect que j'ai pour vous.

Votre encouragement, votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Je vous remercie infiniment pour tous les bienfaits.

Puisse Dieu, le Tout Puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur, et vous procurer une longue vie !

A mes frères et sœurs : Aoua SOW, Oumou SOW, Maïmouna SOW, Koyan Ramatoulayi SOW, Soma Assitan SOW, Modibo Kane SOW, Mamadou SOW, Kediakou dite Coumba SOW, Fanta SOW, Madjoum SOW.

La fraternité n'a pas de prix, comme on le dit. J'espère qu'elle restera toujours un lien sacré pour nous.

Grand merci à vous de m'avoir accompagné tout au long de ces années de ma vie d'étudiant. J'aurai toujours besoin de vous pour le reste de ma carrière.

Trouvez tous ici l'expression de mon fraternel amour ! Ce travail est tout à fait à votre honneur ! Puissions-nous demeurer unis par la grâce de Dieu !

A mes cousins et cousines :

Retrouvez ici l'expression de toute ma reconnaissance et toute ma sympathie pour tout ce que vous avez fait pour moi. Que la grâce du Seigneur vous accompagne !

Aux dames de la famille SOW : SOW Ramata TRAORE, SOW Houleye N'DIAYE, SOW Kadiatou CAMARA, SOW Tassy KONATE

Vous êtes remarquables par votre attachement, votre piété, votre crainte de Dieu, votre grandeur d'esprit, votre amour et votre affection pour le bien et pour vos semblables par tant de qualités. C'est une fierté pour moi de vous avoir.

Je vous dédie ce travail, témoignage de mon amour et de mon affection à votre endroit, avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon épouse : SOW Ramata Traoré

Voici enfin venu au terme de cette dure épreuve. Naturellement ce travail est le tien car, tu as participé de près et de loin à son élaboration. Ton amour, ton courage, ta sagesse ne m'ont jamais fait défaut. Que Dieu le Tout puissant nous guide sur le chemin du bonheur et de la réussite.

Que le chemin de la vie soit pour nous, parsemé d'amour, de compréhension, d'enfants, d'affection et de longévité. Je te rassure de mon amour sincère et de toute ma reconnaissance.

Au feu Docteur Oumar KHALIFA : Meilleur que vous, je n'en connais pas. Je ne pourrai jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Votre encouragement, votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Je vous remercie infiniment pour tous les bienfaits. Puisse Dieu, le Tout Puissant vous accueillir dans son éternel paradis.

REMERCIEMENTS :

Mes remerciements vont à l'endroit :

- **De ma chère patrie** : Mali, terre de mes ancêtres.
- **De mes enseignants** :
 - De l'école fondamentale primaire : **Ecole A** de Lafiabougou et **Collège de l'Union** d'Hamdallaye et l'école secondaire et du lycée **Mamadou Kardjigué Diakité** à Lafiabougou.
 - De la Faculté de Médecine et d'Odontostomalogie F.M.O.S.

Merci pour la qualité de l'enseignement que vous nous avez dispensée avec compétence et dévouement.

- **A tout le personnel du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU du point G** :
- **Professeurs et Docteurs DES**
- **Aux techniciens, secrétaires et manœuvres du service** :

Soma A Sow, Yabéma, Samaké, Tonton Dembelé, Tonton Yacouba, Traoré, O. Kamaté, Djoba, Aminata, Alou et Koniba.

A l'ensemble des étudiants thésards du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques : Alassane Touré, Adama Boïté, Djouma Keïta, Adjaratou Doumbia, Moïse Assogba, Roméo Yopa, Pape Abdoulaye Kanouté, Rokia Keïta, Aminata Coulibaly, , Sirandou Sissoko, Modibo Diarra, Laeticia Corrine Youdom, Ramata Axelle Cissé, Souleymane Goïta, Fatoumata Z Diabaté, Safiatou Bagayoko, Diaoulé Keïta.

- **A mes aînés Docteurs DES en Anatomie et Cytologie Pathologiques**

Dr Mamadou Keïta, Dr Tamaki Sissoko, Dr Boncana Koné, Dr Sega Diakité, Dr Rokia Maïga, Dr Mamadou Touré, Dr Aliou Bina Diarra.

- **A mes meilleurs amis:**

Sekou Keita, Bocar Diarra, Hamidou Coulibaly, Lassana Keita, Dramane Traoré, Oumar Traoré, Ba Doucouré, Feu Ibrahim Sidibé

- **Aux Males Dominants**

- **A la grande famille les Rassembleurs-Secouristes-Réformateurs (RASERE)**

- **A tous mes camarades de la 8^{ème} promotion du numerus clausus**

(Promotion Feu Pr Moussa Traoré)

- Nous traduire notre gratitude à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) qui par son programme de recherche sur les **thématiques intégrées**, a bien voulu financer le projet << **Cartographie de papillomavirus humain à haut risque chez les femmes sexuellement actives dans la région Ouest Africaine** >>. C'est grâce à ce financement que nous avons pu effectuer la caractérisation moléculaire des souches HPV dans notre pays.
- Nous remercions également le Pr. Jacques SIMPORE, Professeur titulaire de Biologie Moléculaire et de Génétique, Directeur du CERBA/LABIOGENE et le Dr Théodora M. ZOHONCO, Maître Assistance, qui nous ont accueillis dans leur centre et qui nous ont initiés à la recherche et nous ont encadrés dans le domaine de la biologie moléculaire.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury

Pr Bakarou KAMATE

- **Maître de conférences agrégé en Anatomie et Cytologie Pathologiques à la FMOS**
- **Chercheur et praticien hospitalier au C.H.U du Point G**
- **Collaborateur du projet de dépistage du cancer du col utérin au Mali**
- **Collaborateur du registre national des cancers au Mali**
- **Secrétaire Général de la Division d’Afrique Francophone de l’Académie Internationale de Pathologie (AIP/ DAF)**

Cher maître,

Nous vous remercions d’avoir accepté de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Votre humanisme, votre souci du travail bien fait, votre courage et votre sens élevé de responsabilités font de vous un maître exemplaire.

L’étendue de vos qualités morales et sociales suscite une grande admiration.

Nous avons été impressionnés par votre esprit scientifique et votre courage pour la recherche. Permettez nous de vous exprimer ici cher maître le témoignage de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge :

Dr Bourama COULIBALY

- **Maître assistant en Anatomie et Cytologie Pathologiques à la F.M.O.S**
- **Médecin Pathologiste**
- **Ancien Interne des Hôpitaux de Bamako**
- **Praticien hospitalier au C.H.U. du Point G**
- **Collaborateur du registre national des cancers du Mali**

Cher maître,

Votre simplicité, votre humanité, votre amour pour le travail bien fait font de vous un exemple.

Nous sommes très fiers de vous compter parmi les membres de ce jury malgré votre lourde responsabilité. Nous n'avons pas été du tout surpris de votre franche contribution à l'amélioration de la qualité de ce travail.

Recevez ici, cher maître notre sentiment de gratitude !

A notre Maître et Co Directeur de thèse :

Dr Sidi Boula SISSOKO

- **Maître assistant en Histologie Embryologie et Cytogénétique à la FMOS**
- **Membre de la société Africaine Francophone d’Histologie Embryologie et Cytogénétique (SAFHEC)**
- **Membre de la société Malienne de Génétique**

Cher maître

Nous vous remercions de l’honneur que vous avez bien voulu nous faire en acceptant de co-diriger ce travail.

Nous avons été séduits par votre simplicité, votre sens de respect envers l’autre, votre esprit d’écoute et votre disponibilité.

Pour toutes ces immenses qualités, soyez rassuré de notre reconnaissance et de notre profond dévouement.

Puisse Dieu vous procurer une longue vie pleine de bonheur.



A notre Maître et Directeur de thèse :

Pr Cheick Bougadari TRAORE

- **Professeur Titulaire en Anatomie et Cytologie Pathologiques à la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (F.M.O.S.)**
- **Chef du Département d'Enseignement et de Recherche (D.E.R.) des sciences fondamentales à la Faculté de Médecine et d'odontostomatologie**
- **Chef de service du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du C.H.U. du Point G**
- **Chercheur et Praticien hospitalier au C.H.U. du Point G.**
- **Collaborateur du registre national des cancers et du projet de dépistage du cancer du col de l'utérus au Mali**

Cher Maître;

Merci de la confiance que vous nous avez accordée en nous confiant ce travail, votre simplicité, votre abord facile, votre dynamisme et surtout la clarté de votre enseignement font de vous un maître de qualités exceptionnelles.

Nous sommes fiers de nous compter parmi vos élèves.

Nous apprécions votre esprit et votre rigueur scientifique.

Soyez rassuré cher maître, de notre profonde reconnaissance.

SOMMAIRE :

1.INTRODUCTION :	1
OBJECTIFS :	3
OBJECTIF GENERAL :	3
OBJECTIFS SPECIFIQUES :	3
2.GENERALITE:	4
2.1 CANCER DU COL DE L’UTERUS	4
2.2. GENERALITES SUR LES VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN (HPV)	13
2.3. TECHNIQUES DE MISE EN EVIDENCE DES HPV	29
2.4. PROPHYLAXIE DU CANCER DU COL	32
3. MATERIEL ET METHODES :	34
3.1 CADRE ET LIEU D’ETUDE :	34
3.2 TYPE ET PERIODE D’ETUDE :	35
3.3 POPULATION D’ETUDE :	35
3.4.1.2 REACTIF :	36
3.4.2.1 DETECTION DES GENOTYPES DU HPV	37
3.4.2.2 INTERPRETATION DES RESULTATS DE LA PCR	39
3.4.2.3 ANALYSE DES DONNEES	39
3.4.2.4 CONSIDERATIONS ETHIQUES	40
4. RESULTATS :	41
5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION :	49
CONCLUSION:	53
RECOMMANDATIONS :	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	58

Liste des figures :

Figure 1: Incidence et taux de mortalité des cancers du col dans plusieurs régions du monde [12]	5
Figure 2: Nombre de cas et incidence estimés du cancer du col[17]	6
Figure 3 : Représentation schématique de la zone de jonction pavimento-cylindrique et Anatomie du col utérin[97].....	7
Figure 4: Histoire naturelle de l'infection à HPV au cancer du col[26].....	11
Figure 5 : Structure au microscope du virus du papillome humain [41]	14
Figure 6 : Organisation génétique des Alphapapillomavirus[42].....	16
Figure 7: Organisation structurale et génomique des HPV[98],[43],[44]	17
Figure 8: Arbre phylogénique 118 types de papillomavirus[48].....	20
Figure 9: Cycle reproductif des papillomavirus[50].....	22
Figure 10 : Rôle des protéines E5, E6 et E7 dans la carcinogénèse des HPV[99].	25
Figure 11 : Représentation schématique des différentes localisations des principales amorces consensus sur le génome d'HPV [43].....	31

Liste des tableaux :

Tableau I: Différentes terminologies employées pour le compte-rendu des résultats de la cytologie et de l’histologie (OMS, 2007)	9
Tableau II: Probabilités de régression, de persistance et d’évolution des CIN [23,24]	10
Tableau III: Programme d’amplification sur SaCycler-96 pour la PCR-RT du HPV	39
Tableau IV: La fréquence de l’infection à HPV	41
Tableau V: Répartition selon le type de HPV	42
Tableau VI: Répartition en fonction des infections uniques ou multiples	43
Tableau VII: Répartition des cas selon la tranche d’âge	43
Tableau VIII: Répartition des cas selon la contraception	44
Tableau IX: Répartition des cas selon la parité	44
Tableau X : Répartition des cas selon le régime matrimonial	45
Tableau XI : Répartition des cas selon le type histologique	45
Tableau XII: Répartition des femmes selon la contraception et le type histologique	46
Tableau XIII : Répartition selon le test HPV et la tranche d’âge	46
Tableau XIV : Répartition selon le type histologique et le type HPV	47
Tableau XV : Répartition selon le type histologique et la tranche d’âge	48

SIGLES ET ABBREVIATIONS

% : Pourcentage,

°C : Degré Celsius,

AA : Asie-Amérique,

ADN : Adénosine Désoxyribonucléique,

AIP/DAF : l'Académie Internationale de Pathologie de la Division d'Afrique Francophone

AIRC : Agence Internationale de Recherche contre le Cancer,

AUF : Agence Universitaire de la Francophonie,

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché,

ARN : Acide Ribonucléique,

ASC-H : Cellules Epidermoïdes Atypiques ne permettant pas d'exclure une lésion intra-épithéliale de haut grade,

ASCUS : Cellules Epidermoïdes Atypiques de Signification Indéterminée,

CBP : Creb Binding Protein,

Cdk₂ : Cyclin dependent Kinase 2,

CERBA : Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro-Annigo,

CHU : Centre Hospitalier Universitaire,

CIN : Néoplasie Intra-épithéliale,

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer,

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité,

DER : Département d'Enseignement et de Recherche,

DES : Diplôme d'Etude Spécialisée

E₆AP : E₆ Associée à la Protéine,

E₂F : Facteur d'Elongation 2,

EGF : Epidermal Growth Factor/ Facteur de Croissance Epidermique,

FMOS : Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie,
HIV/VIH : Virus de l'Immunodépression Humain,
HLA : Human Leukocyte Antigen/ Antigène des Leucocytes Humains,
HSIL/LIEHG : Lésion Intra-Epithéliale de Haut Grade,
hTERT : Transcriptase Inverse de la Télomérase Humaine,
HPV/VPH : Virus Papillome Humain,
HPV-HR : Virus Papillome Humain à Haut Risque oncogène,
Ig : Immunoglobuline,
Il : Interleukine,
JPC : Jonction Pavimento-Cylindrique,
L : Late/Lente,
LSIL/LIEBG : Lésion Intra-Epithéliale de Bas Grade,
MGMT : Méthyl Guanine Méthyl Transférase,
MST : Maladie Sexuellement Transmissible,
Nm : Nanomètre,
OMS : Organisation Mondiale de la Santé,
ORF : Open Reading Frame,
P53 : Protéine 53,
P300 : Protéine 300,
PAL : Phosphatase Alcaline,
PCR : Polymerase Chain Reaction/ Réaction en Chaîne de la Polymérisation,
PDZ : Protéine en Doigt de Zinc,
PRb : Protéine du Rétinoblaste,
PV : Papillomavirus,
SPSS : Statistical Package for the Social Sciences,

URR : Upstream Regulatory Region,

VLP : Virus Like Particules/Pseudo Particules Virales.

1. INTRODUCTION :

Le cancer du col utérin est une néoformation tissulaire due à une prolifération cellulaire excessive, anormale, anarchique, et autonome qui se développe aux dépens du col de l'utérus [1].

A l'échelle mondiale, le cancer du col de l'utérus est le 2^{ème} cancer le plus fréquent chez les femmes après celui du sein avec une fréquence de 15% [2, 3].

Selon Bastian et al, 466 000 nouveaux cas sont répertoriés chaque année dans le monde ; dont 3/4 vivent dans les pays en développement [4].

C'est le cancer le plus répandu parmi la population féminine de ces pays où, il représente la première cause de mortalité chez les femmes d'une cinquantaine d'années et la 2^{ème} cause (après la mortalité maternelle) chez la jeune femme et la multipare [5, 6].

Au Mali, depuis 1985, la fréquence du cancer du col utérin est en augmentation [7, 8]. Selon les données du registre des cancers du Mali, le cancer du col utérin vient en première position des cancers féminins, avec une fréquence de 26,6% et une incidence de 35,1 pour 100 000 habitants [9].

La vaccination contre le HPV a été récemment lancée pour prévenir l'infection chez les jeunes filles contre les quatre types de souches les plus importants, responsable de la genèse du cancer du col de l'utérus. Cependant la prévention de ce cancer devra encore reposer sur la détection précoce des lésions précancéreuses par les méthodes d'inspection visuelle ou par les frottis cervico-vaginale ou encore par les tests HPV.

Plus de la moitié des cancers du col utérin ne sont pas diagnostiqués ou sont déjà incurables au moment de leur diagnostic dans nos pays [10]. Ce qui est déplorable pour un organe aussi accessible à l'exploration et au traitement.

En effet, l'apparition d'un cancer nécessite le passage par des lésions précancéreuses pouvant mettre en moyenne 15 à 20 ans à se développer après la persistance d'une infection à HPV à haut risque, lésions aux quelles plusieurs appellations ont été attribuées par les différentes classifications : dysplasies, néoplasies intra épithéliales(CIN), lésions précancéreuses de bas et de haut grade. Par ailleurs les infections aux papillomavirus humains en particulier à ceux appartenant aux génotypes à haut risque oncogène (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52...) sont fortement associées à l'apparition des lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus. Ces dernières sont reconnues comme une des plus fréquentes, sinon la plus fréquente, des infections sexuellement transmissibles. La distribution et la fréquence de ces types oncogènes d'HPV diffèrent fortement selon les régions géographiques. En effet, cette différence peut avoir un retentissement négatif sur l'efficacité des vaccins déployés, qui visent les deux types les plus fréquemment retrouvés dans les lésions précancéreuses et cancéreuses du col dans les pays développés. C'est dans le but de déterminer les types d'HPV associés aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin à Bamako (Mali), que nous savons initié cette étude.

Objectifs :

Objectif général :

- ✓ Décrire les génotypes des Virus du Papillome Humain (HPV) associés aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin à Bamako (Mali).

Objectifs spécifiques :

- ✓ Déterminer la fréquence des infections à HPV associées aux lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin à Bamako (Mali)
- ✓ Décrire les aspects sociodémographiques des patientes présentant des infections à HPV
- ✓ Déterminer le génotype de HPV selon le grade de la néoplasie.

2. GENERALITES

2.1 Cancer du col de l'utérus

Le cancer du col utérin est une tumeur maligne viro-induite prenant naissance sur le col de l'utérus situé au fond du vagin. Il peut se manifester sous forme de tumeurs rares comme les mélanomes et les schwannomes du col mais les deux formes histologiques majeures décrites sont : le carcinome malpighien ou épidermoïde représentant 80 à 95 % des tumeurs malignes du col et les adénocarcinomes moins fréquents prenant naissance au niveau de l'épithélium cylindrique endocervical. Il est précédé par des états dits précancéreux, appelés aussi néoplasie intraépithéliale ou dysplasie, classés en trois grades selon la sévérité des anomalies détectées [11].

2.1.1 Epidémiologie du cancer du col utérin

2.1.1.1 Dans le monde

Le cancer du col utérin représente 10 % des cancers féminins avec une incidence mondiale évaluée à environ 500 000 cas par an dont 80% dans les pays en voie de développement. Selon l'OMS, si aucune action préventive n'est programmée, les décès par cancer devraient augmenter de 25% au cours des dix prochaines années dans ces mêmes pays [12]. L'incidence varie considérablement en fonction de la région géographique ainsi les taux les plus élevés sont observés dans le Sud de l'Afrique, en Amérique Centrale, en Amérique du Sud et en Inde ; les plus faibles en Amérique du Nord, en Australie, au Moyen Orient et dans certains pays d'Europe comme l'Espagne, l'Italie et l'Angleterre [13]. L'incidence du cancer du col varie également en fonction du facteur socio-économique des pays (figure1).

Dans les pays en développement où les infrastructures de prévention et le personnel qualifié font défaut, 83% des cas de cancer sont diagnostiqués à des

stades très avancés devenant ainsi le premier cancer chez la femme dans ces régions en termes de mortalité [13].

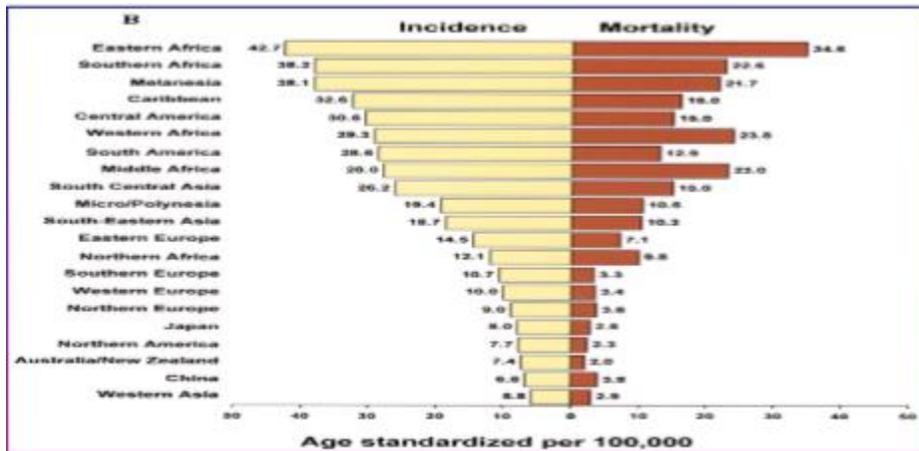


Figure 1: Incidence et taux de mortalité des cancers du col dans plusieurs régions du monde [13]

2.1.1.2 En Afrique

De fortes incidences sont observées en Afrique avec des taux supérieurs à 50 pour 100 000 habitants et des taux de mortalité standardisés sur l'âge dépassant parfois 40 pour 100 000 habitants . En 2002 ; 72 000 nouveaux cas ont été enregistrés et 56 000 femmes sont mortes du cancer du col de l'utérus en Afrique subsaharienne [14].

En Afrique, l'incidence standardisée sur l'âge est estimée à 29,3 pour 100.000 habitants par an et varie considérablement entre les régions: 42,7 en Afrique de l'Est (la plus haute incidence dans le monde), 38,2 en Afrique de Sud, 29,3 en Afrique de l'Ouest, 28 en Afrique du Centre et 12,1 en Afrique du Nord [15].

2.1.1.3 Au Mali

Les dernières études réalisées montrent que le cancer du col utérin vient en première position des cancers féminins et en troisième position pour tous les cancers avec une fréquence de 27,2% au Mali [16,17].

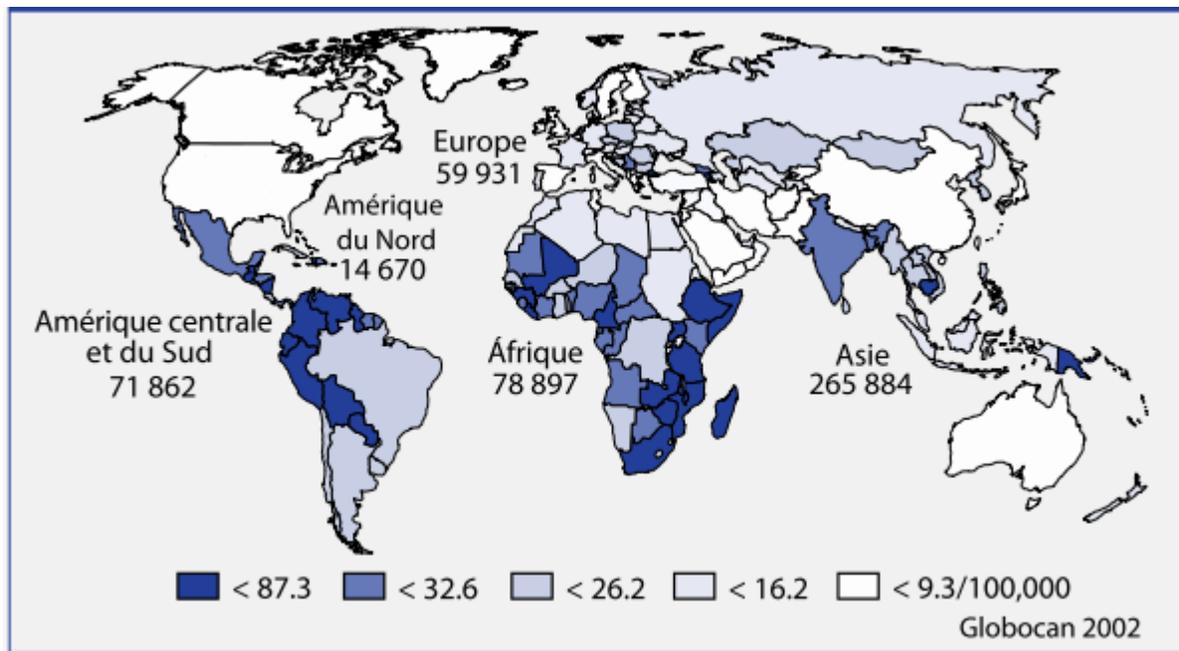


Figure 2: Nombre de cas et incidence estimés du cancer du col [18]

2.1.2 Rappel anatomique et histologique du col de l'utérus

Le col utérin de forme cylindrique ou conique, correspond à la portion basse de l'utérus, et mesure 3 à 4 cm de long pour 2,5 à 3,5 de diamètre. Ses dimensions et sa forme varient en fonction de l'âge de la femme, de sa parité et de son statut hormonal. Un canal endocervical traverse le col et met en relation la cavité utérine avec le vagin s'étendant de l'orifice interne à l'orifice externe. La moitié inférieure du col désignée sous le nom de portion intra-vaginale comprend une muqueuse exo-cervicale et une muqueuse endocervicale contiguës sur une ligne appelée zone

de jonction pavimento-cylindrique (JPC) correspondant au point de départ des lésions (Figure 3).

En dessous de ces deux muqueuses existent des tissus conjonctifs à composante musculaire dominante [19,20]. L'exocol et l'endocol sont respectivement tapissés par l'épithélium pavimenteux pluristratifié non kératinisé (ou malpighien) et épithélium cylindrique uni-stratifié (ou glandulaire) [20] (Figure 3).

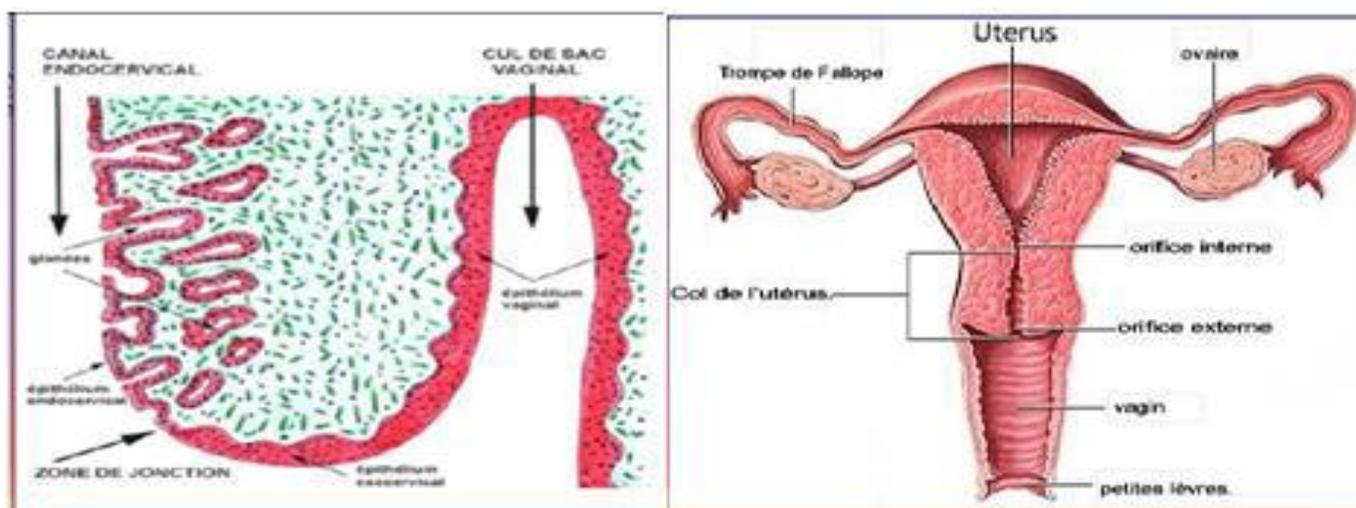


Figure 3 : Représentation schématique de la zone de jonction pavimento-cylindrique et Anatomie du col utérin [21]

2.1.3 Classification des lésions précancéreuses du col

Le cancer invasif épidermoïde du col de l'utérus est précédé par de lésions précancéreuses, le plus souvent asymptomatiques. Diverses classifications ont été proposées pour les caractériser. L'OMS en 1968, distingue différents grades : dysplasie légère, modérée et sévère ou carcinome in situ, alors que Richart en 1973 propose une classification cytologique et histologique en terme de néoplasies cervicales intraépithéliales (CIN) en 3 grades selon la sévérité des lésions : CIN1, CIN2 et CIN3.

Par rapport à un épithélium normal, une CIN comporte des perturbations architecturales de l'épithélium et une prolifération des cellules atypiques plus ou moins différenciées.

La classification cytologique de Bethesda quant à elle propose deux groupes pathologiques : les lésions de bas grade ou LSIL (Low Squamous Intraepithelial Lesion), regroupant les condylomes et CIN1; et les lésions de haut grade ou HSIL (High Squamous Intraepithelial Lesion), correspondant à la CIN 2 et à la CIN3 [22]. Cette classification proposée initialement pour la cytologie, est aussi couramment employée pour le diagnostic histologique.

Dans cette dernière, constamment réactualisée, a été introduit en 2001 le frottis ASCUS (Atypic Squamous Cell Undetermined Significance) correspondant à des frottis ambigus, de signification indéterminée.

Tableau I: Différentes terminologies employées pour le compte-rendu des résultats de la cytologie et de l'histologie (OMS, 2007)

Classification cytologique (employée pour le dépistage)		Classification histologique (employée pour le diagnostic)	
Pap (frottis)	Système Bethesda	Système Richart	Classifications descriptives OMS
Classe I	Normal	Normal	Normal
Classe II	ASU-US ASU-H	Atypie	Atypie
Classe III	LIEBG	CIN1, y compris condylome plan	Koïlocytose Dysplasie légère
Classe III	LIEBG	CIN 2	Dysplasie modérée
Classe IV	LIEBG	CIN 3	Dysplasie sévère
Classe V	LIEBG	CIN 3	Carcinome in-situ
Classe VI	Cancer invasif	Cancer invasif	Cancer invasif

CIN : Néoplasie cervicale intraépithéliale ; LIEBG : Lésion intraépithéliale de bas grade ; LIEHG : Lésion intraépithéliale de haut grade ; ASC-US : Cellules épidermoïdes atypiques de signification indéterminée ; ASC-H : Cellules épidermoïdes atypiques ne permettant pas d'exclure une lésion intraépithéliale de haut grade.

2.1.4 L'histoire naturelle du cancer du col

Le développement du cancer du col utérin semble suivre une progression chronologique ; d'une simple infection à HPV vers un cancer invasif en passant par les stades CIN2 et CIN3 [22]. Les risques de progression et d'évolution vers l'invasion augmentent avec la sévérité des anomalies.

Ainsi une dysplasie légère ou CIN1 a un fort potentiel de régression alors qu'une dysplasie sévère (CIN3) évoluera préférentiellement vers un cancer (tableau II).

Tableau II: Probabilités de régression, de persistance et d'évolution des CIN [23,24]

Lésion	Régression	Persistance	Progression vers une CIN supérieure	Progression vers un cancer invasif
CIN1	57	32	11	1
CIN2	43	35	22	5
CIN3	32	<56	-	12%

Par ailleurs l'histoire naturelle de la CIN1 rejoint celle des infections à HPV avec des taux très élevés de régression spontanée mettant en cause son rôle de précurseur [25]. Ainsi, ce mode de progression continue a été remplacé par un modèle à deux groupes de lésions au potentiel d'évolution très différent.

D'une part les lésions de bas grade (HPV/CIN1) bénignes, régressives et pouvant être générées par n'importe quelle variété d'HPV (HPV6, 11, 16,18...). D'autre part les lésions de haut grade (CIN2/CIN3), qui révèlent des anomalies épithéliales majeures. Les HPV oncogènes (HPV16, 18) ou de haut risque capables d'intégrer le génome de la cellule hôte sont généralement incriminés dans la genèse de ces dernières. L'histoire naturelle de l'adénocarcinome cervical est superposable à celle du carcinome épidermoïde [22].

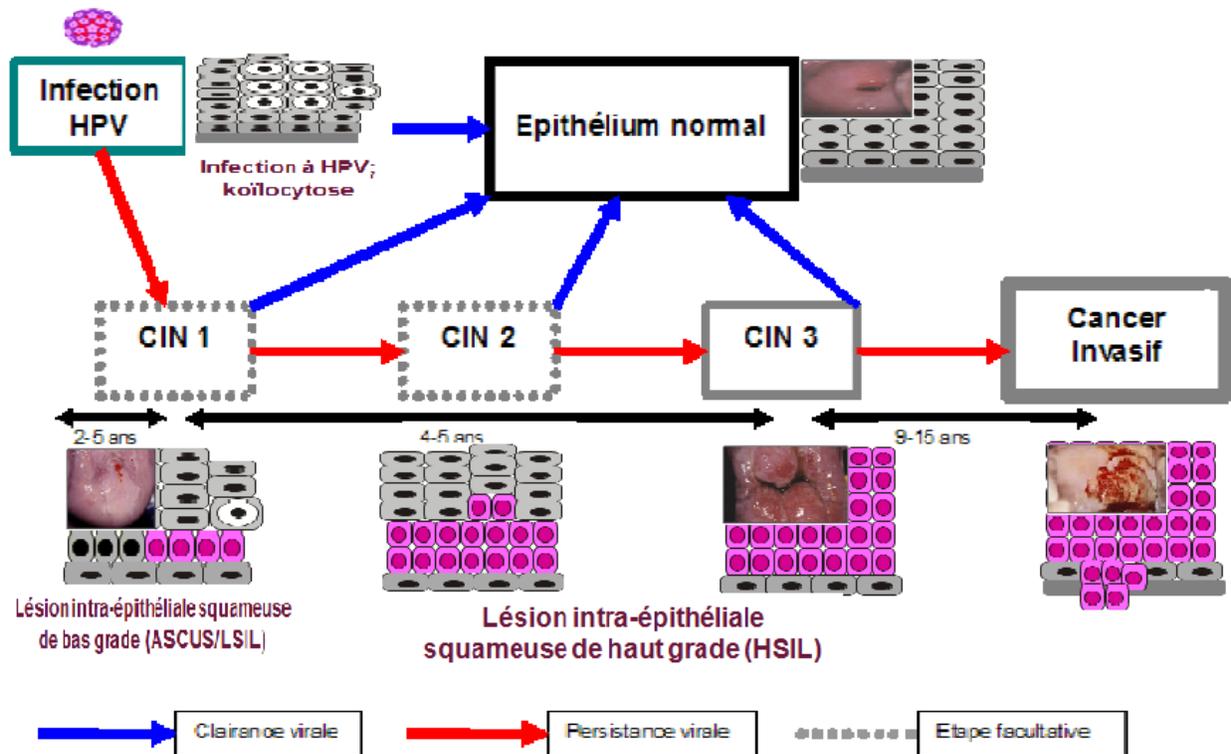


Figure 4: Histoire naturelle de l'infection à HPV au cancer du col [26]

Par ailleurs de nombreuses études ont mis en évidence la contribution de certains facteurs, dits de risque et la persistance de l'infection à HPV dans la progression des lésions précancéreuses.

2.1.5 Facteurs de risque

Les données épidémiologiques montrent que le cancer du col utérin est une maladie multifactorielle. L'infection aux HPV apparaît comme le facteur indispensable dans la genèse du cancer du col utérin, mais d'autres cofacteurs qui peuvent être liés au virus, à l'hôte et à l'environnement seraient nécessaires [27].

2.1.5.1 Facteurs liés au virus

Certains HPV, plus particulièrement les types 16 et 18 sont plus associés que d'autres à une persistance et à une évolution vers le cancer cervical.

Aussi au sein d'un type donné, certains variants sont considérés comme associés à un risque de développement de cancer, c'est le cas de variants d'HPV16 notamment les variantes non européennes. Une charge virale élevée majorerait aussi considérablement le risque de cancer mais, il n'y a pas de consensus à ce sujet par manque d'études longitudinales [28].

2.1.5.2 Facteurs liés à l'hôte

Les facteurs de risque liés à l'hôte peuvent être génétiques (certains haplotypes HLA) ou acquis (HIV+, transplantées rénales et dialysées) mais les plus fréquents restent l'âge et le comportement sexuel.

2.1.5.2.1 L'âge et le comportement sexuel

Le nombre de partenaires et l'âge au premier rapport sexuel sont en effet des facteurs déterminants de l'infection à HPV oncogène et des lésions qui lui sont associées. On estime que le risque de développer un cancer du col est trois fois plus important chez les femmes ayant dix partenaires différents, par rapport à celles ayant un seul partenaire.

Aussi les femmes ayant eu leur premier rapport avant l'âge de 16 ans présentent un risque deux fois plus élevé que celles dont le premier rapport a eu lieu après l'âge de 20 ans [29,30].

La fréquence des cancers cervicaux est également estimée plus importante dans une population féminine dont les partenaires présentent des antécédents de lésions génitales ou de MST [31].

2.1.5.2.2 Contraception orale

La durée de contraception orale semble associée également à un risque accru de développement d'une néoplasie du col utérin [32].

2.1.5.2.3 La parité

Les nombreuses grossesses, du fait des modifications hormonales, immunologiques et des traumatismes liés à l'accouchement, augmenteraient le risque de développement d'un cancer cervical [28].

2.1.5.3 Facteurs environnementaux

On peut distinguer les facteurs nutritionnels, socioéconomiques et le tabagisme qui reste le plus important. En effet, les fumeuses ont un risque deux fois plus élevé de cancer du col utérin. La sévérité de la maladie est corrélée à l'importance du tabagisme ainsi les femmes qui fument plus de 10 cigarettes par jour ont un plus grand risque de développer de lésions cervicales intra épithéliales de haut grade [33,34]. Le tabac semble empêcher la guérison spontanée des lésions précancéreuses, et diminue aussi la réponse immunitaire en augmentant les risques d'infection persistante permettant ainsi l'évolution vers le cancer [35,36].

2.2. Généralités sur les Virus du Papillome Humain (HPV)

2.2.1 Historique

Depuis 1842 Rigoni-Stern, mis en évidence un lien entre le cancer du col de l'utérus et les rapports sexuels à partir de l'observation de la rareté de cette maladie chez les religieuses et les femmes vierges [37]. L'origine virale des verrues et des condylomes n'a été démontrée pour les lésions verruqueuses humaines qu'en 1907 par Ciuffo qui s'auto inocula le dos de la main par un infiltrat de broyat stérile de verrues vulgaires.

Le premier papillomavirus (PV) décrit fut celui du lapin de Garenne en 1933 [38] par Shope et les particules virales n'ont été mises en évidence en microscopie électronique qu'en 1950 par Strauss [39]. L'impossibilité de le cultiver in vitro a longtemps limité la connaissance du virus.

Son identification génomique a été rendue possible grâce à la biologie moléculaire seulement depuis les années 1970, avec un essor particulier après la découverte en 1985 de la polymérase chain reaction (PCR). Dans les années 1990, grâce aux études épidémiologiques, il a été démontré que l'infection à HPV16/18 et d'autres HPV à haut risque constituait le principal facteur de risque de cancer du col de l'utérus et des vaccins anti-HPV ont été mis au point [37].

2.2.2 Structure et Organisation génomique des HPV [40]

Les HPV sont des virus de petite taille d'environ 52 à 55 nm de diamètre, non enveloppés dont la capsidie à symétrie icosaédrique est constituée de 72 capsomères (Figure 5).

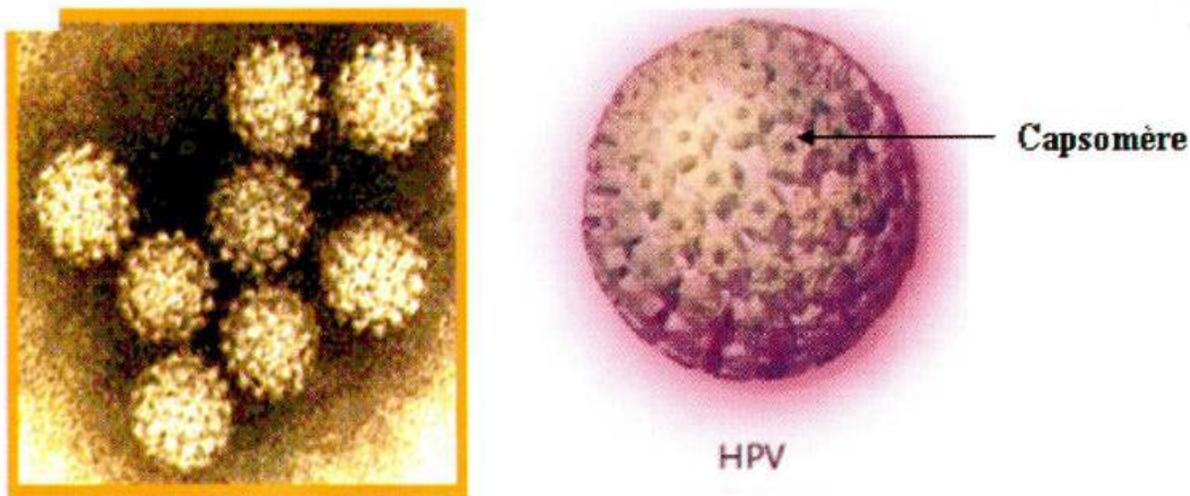


Figure 5 : Structure au microscope du virus du papillome humain [41]

Ils sont constitués d'un ADN bi-caténaire circulaire d'environ 8000 paires de bases dont un seul des brins est codant. Ce dernier contient environ 10 phases ouvertes (ORF : open reading frame) de lecture qui se chevauchent. Tous les HPV ont une organisation génomique similaire, qui est organisée en trois régions (Figure 6).

Une région précoce: E (early) représentant 45% du génome, contient huit cadres ouverts de lecture (E1 à E8) codant pour des protéines non structurales dites de fonction. Ces dernières sont impliquées dans la réplication extra-chromosomique du génome viral et sa transcription (E1, E2) ; le maintien du génome sous forme épisomal (E2), maturation des particules virales et désorganisation du cytosquelette (E4), les processus de transformation cellulaire (E5, E6 et E7) et d'immortalisation cellulaire (E6 et E7) et enfin E8 est impliquée dans la latence au sein des cellules épithéliales basales.

Une région tardive : L (late) de lecture représentant environ 40% du génome et composé de deux ORF (L1 et L2) codant pour les protéines de structure de la capsid exprimées seulement dans les cellules bien différenciées lors d'infections productives. Elles vont permettre l'assemblage final du virus et la stabilisation de la capsid.

Et enfin une région non codante : LCR (long control region) ou URR (upstream regulatory region): correspondant aux 15% restants du génome est très variable et contient les promoteurs des gènes précoces ainsi que des séquences de régulation de la transcription [40].

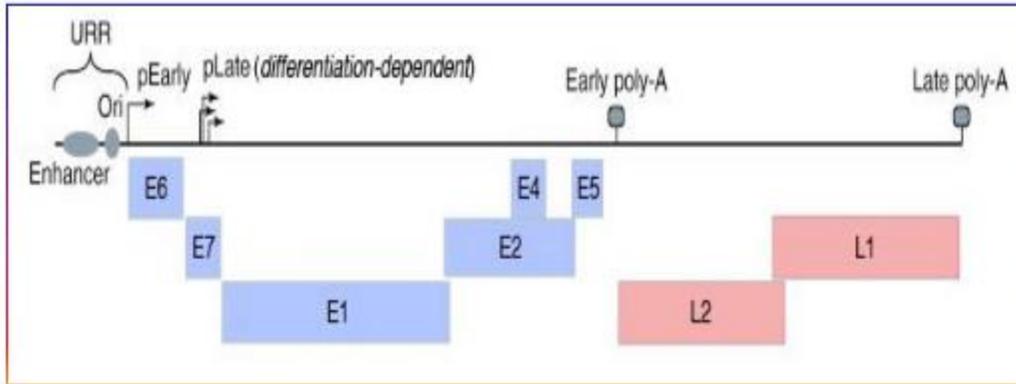


Figure 6 : Organisation génétique des Alphapapillomavirus [42]

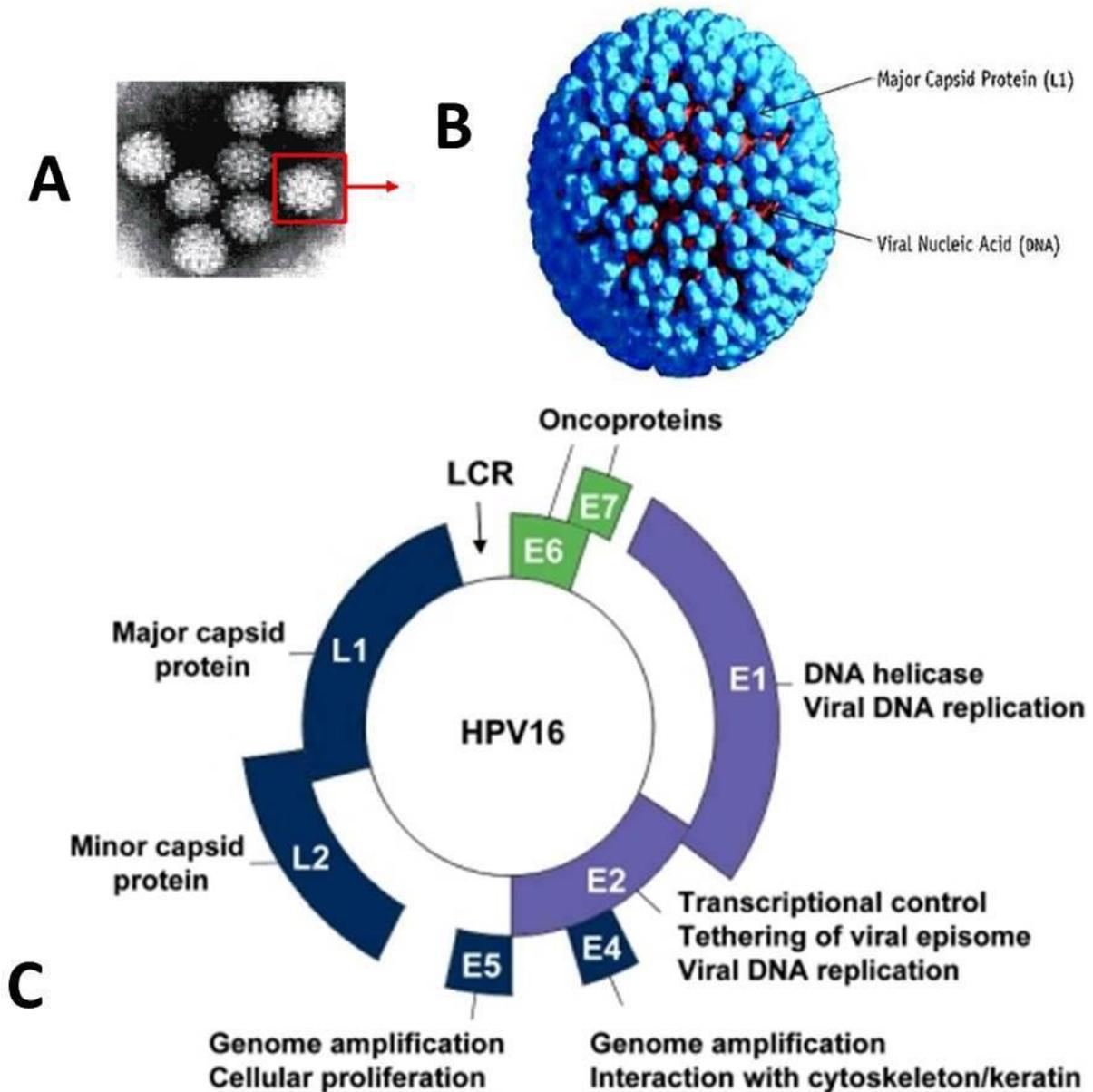


Figure 7: Organisation structurale et génomique des HPV

A : particules virales en microscopie électronique [43]; **B** : modèle atomique de la capsid virale [44] ; **C** : Représentation schématique du génome [45] .

2.2.3 Taxonomie des papillomavirus

A l'origine regroupés dans la famille des *Papovaviridae* les papillomavirus forment aujourd'hui la famille des *Papillomaviridae*, comportant de très nombreux virus infectant diverses espèces de mammifères et d'oiseaux de manière spécifique. Ce sont les Human Papilloma Virus (Virus Papillome Humain) « HPV » qui ont été les plus étudiés et plus de 200 types d'HPV sont recensés actuellement dont environ 80 génotypes séquencés [46].

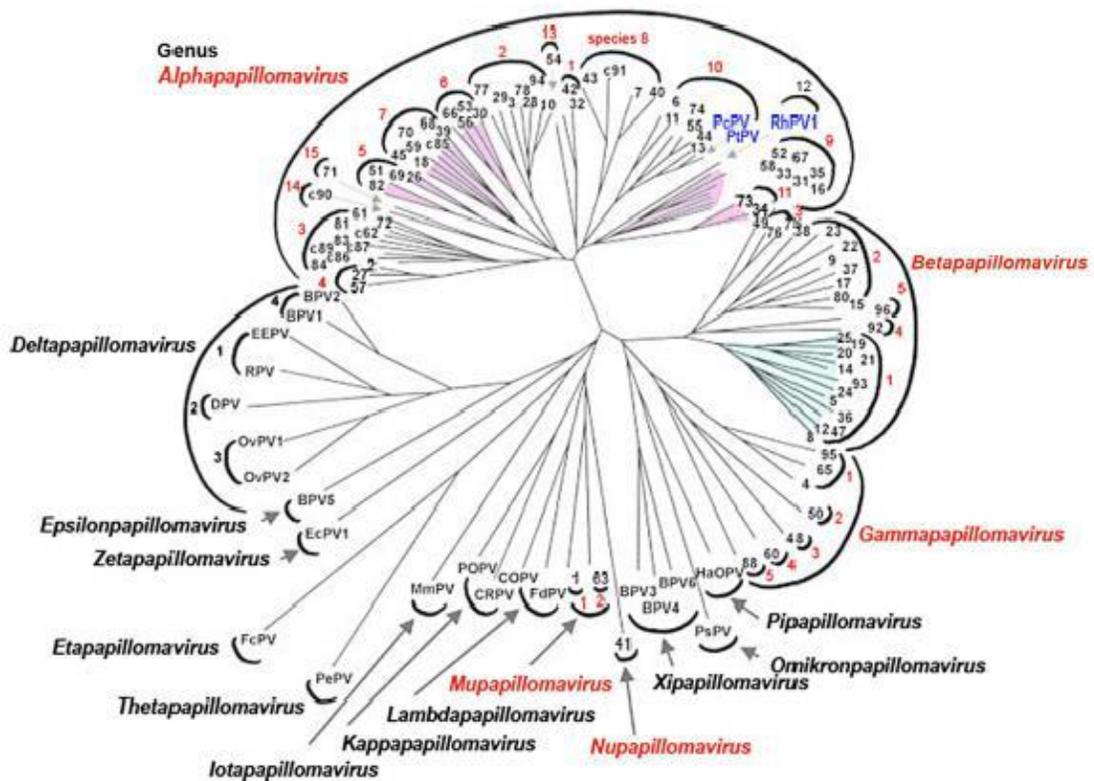
Le gène L1, codant la protéine majeure de capsid est le plus conservé chez les différents génomes de papillomavirus. Donc, c'est en fonction des homologies des séquences de ce gène et des analyses phylogénétiques que leur classification a été établie. Ainsi les papillomavirus sont subdivisés en 16 genres (nommés alpha à pi avec moins de 60 % d'identité) dont 5 correspondant aux HPV (Figure 6); ces genres sont subdivisés en espèces (60 à 70 % d'identité) désignée par un chiffre arabe. Chaque espèce comprend différents types (71 à 89 % d'identité), au sein d'un même type, les sous-types partagent 90% à 98% d'identité et les variants ont des différences d'identité inférieures à 2% dans leur séquence L1 et inférieures à 5% dans des régions moins conservées [47]. Les variants, décrits essentiellement pour les HPV16 permettent de distinguer 5 branches phylogéniques distinctes selon leur degré d'homologie et leur origine géographique :

- ❖ E (*Europe*) : Variants retrouvés dans le monde entier (principalement en Europe et en Amérique)
- ❖ As (*Asie*) : Variants retrouvés principalement en Asie du Sud-Est
- ❖ Af1 (*Afrique1*) et Af2 (*Afrique2*) : Ils sont retrouvés principalement en Afrique
- ❖ AA (*Asie-Amérique*) : Variants principalement retrouvés en Espagne, en Amérique centrale et du Sud.

Les différents types d'HPV peuvent être classés aussi selon leur tropisme tissulaire qui est soit cutané ou muqueux (muqueuses ano-génitales, sphère oro-pharyngée).

Les HPV à tropisme muqueux se caractérisent également par leur pouvoir oncogène et on distingue les types à bas risque oncogène et ceux à haut risque oncogène [48].

Arbre phylogénétique de 118 types de papillomavirus



de Villiers et al, *Virology*, 2004, 324: 17-27

Figure 8: Arbre phylogénique 118 types de papillomavirus [49]

Légende : Les papillomavirus de types humains sont représentés ici par seulement un chiffre arabe à la fin de chaque branche (ex: 39 = HPV39). Les types viraux sont regroupés en espèces et les espèces sont regroupées en différents genres viraux.

2.2.4 Cycle viral des papillomavirus

Suite à la pénétration dans les épithéliums cutanés ou muqueux en faveur de microlésions, les HPV infectent les cellules basales, siège du renouvellement permanent de l'épithélium.

Le cycle multiplicatif est intimement lié à la différenciation des kératinocytes [50] ainsi peut être schématiquement divisé en deux étapes (Figure 9). La première

étape est un cycle non productif, au cours duquel le génome viral est amplifié de façon limitée (50 à 100 copies par cellules). A ce stade, les protéines virales E1, E2, E6 et E7 sont faiblement exprimées [51,52]. La réplication de l'ADN viral s'effectue au cours de la phase S dans les cellules basales et supra-basales sous l'action des protéines E1, E2 et les protéines de la machinerie cellulaire.

L'expression de la protéine E7 va permettre aux kératinocytes des couches supra-basales de poursuivre le cycle cellulaire afin de répliquer l'ADN viral.

La deuxième étape est le cycle productif qui débute lorsque les kératinocytes sont en phase terminale de différenciation et va permettre une forte réplication virale et la production de virus matures. En effet, la différenciation cellulaire provoque l'activation du promoteur tardif et l'augmentation d'expression des protéines de capsid L1 et L2 qui sera suivi de l'assemblage de l'ADN viral. Les virions complets sont ensuite libérés et disséminés au rythme de la desquamation épithéliale [53]. Cette infection virale productive est caractérisée par la présence de koïlocytes : cellules à cytoplasme clair et à noyau irrégulier ou binucléé et le développement de lésions condylomateuses [52]. Le virus peut se propager ainsi au sein d'un même épithélium ou être transmis à un autre individu par contact direct (cutané ou sexuel). La majorité des infections à HPV guérissent spontanément (clairance virale) mais dans le cas des HPV à haut risque, l'ADN viral possède la capacité de s'intégrer au génome cellulaire, d'induire des transformations cellulaires et d'entraîner l'apparition de lésions précancéreuses et/ou cancéreuses.

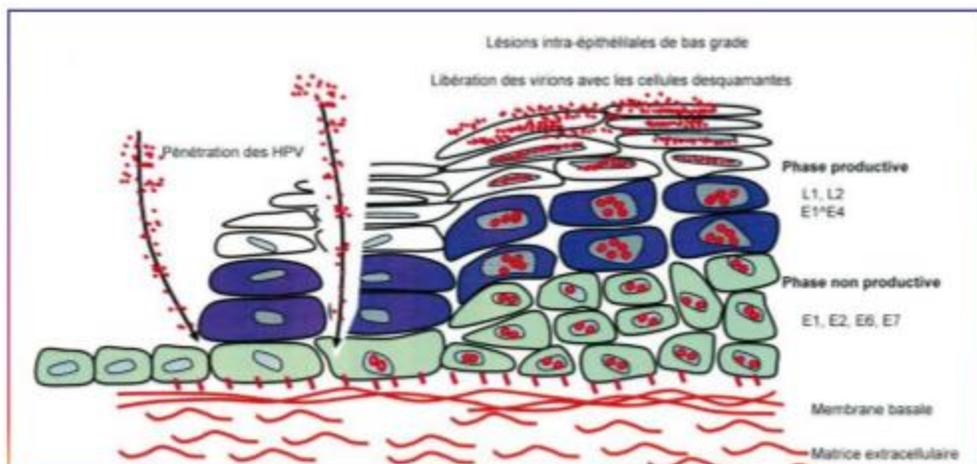


Figure 9: Cycle reproductif des papillomavirus [51]

2.2.5 Mécanismes moléculaires d'induction de la carcinogenèse du col par les HPV

Comme tout virus, les HPV dépendent de la machinerie cellulaire pour la réplication et l'expression de leur génome, mais les particules virales ne sont produites que dans des cellules épithéliales en cours de différenciation donc présentant des activités de synthèse génomique et de prolifération réduites. Le potentiel oncogénique acquis par les HPV-HR dérive clairement de cette stratégie complexe de maintenance dans un contexte cellulaire hostile [54].

2.2.5.1 Intégration de l'ADN viral

Ne concernant que les HPV à haut risque oncogène, l'intégration est considérée comme irréversible conduisant ainsi au développement malin des cellules infectées. Son effet se traduit par la perte d'expression de la protéine E2 qui cesse alors d'inhiber l'expression des protéines E6 et E7 [51]. La figure 10 résume les étapes de la cancérogénèse ainsi que les rôles des protéines E6 et E7.

2.2.5.2 Dérégulation de la prolifération cellulaire [51,55]

La protéine E7 des HPV-HR est capable d'interagir avec les protéines p105Rb, p107 et p130 avec une très grande affinité et induire leur dégradation via le protéasome et séquestration aboutissant à la dissociation du complexe pRb/E2F. En effet, ces protéines régulent le cycle cellulaire en interagissant avec le facteur de transcription hétérodimérique E2F/DP. Ainsi la dégradation de la pRb libère le complexe E2F/DP qui stimule l'entrée en phase S du cycle cellulaire. La protéine E7 est capable aussi d'activer les complexes cyclines (E/CDK2, A/CDK2) et d'inactiver leurs inhibiteurs permettant ainsi le franchissement de la transition G1/S et la progression en phase S de manière continue.

Enfin, la protéine E7 d'HPV 16 peut s'associer aux co-activateurs transcriptionnels p300, CBP (CREB binding protein) et p/CAF (facteur associé à p300/CBP). Ces facteurs participent à l'activation de la transcription médiée par E2F, et leur association avec la protéine E7 conduit à une prolifération aberrante.

L'effet de la protéine E7 est renforcé par la protéine E6. En effet, suite au stress causé par la réactivation aberrante de la réplication de l'ADN, la cellule tente d'activer l'apoptose via l'induction de la protéine p53. Cependant, la protéine E6 des HPV-HR possède la capacité de lier p53 et d'entraîner sa dégradation par le protéasome. Ainsi, la division cellulaire ne sera pas inhibée car l'expression des protéines cibles de p53 impliquées dans l'arrêt du cycle en G1 ou dans l'apoptose n'est pas induite. Indépendamment de la protéine E7, la protéine E6 joue aussi un rôle dans la prolifération cellulaire via son domaine de liaison aux protéines à domaine PDZ.

2.2.5.3 Immortalisation cellulaire [55,56]

Dans les conditions physiologiques, l'absence d'activité télomérase dans les cellules somatiques conduit à chaque division cellulaire au raccourcissement des télomères situés aux extrémités des chromosomes, aboutissant à la sénescence répliquative. Cette activité télomérase est détectée dans 90% des cellules cancéreuses.

En effet la protéine E6 des HPV- HR en association avec E6AP, active la transcription de la sous-unité catalytique hTERT (human télomérase reverse transcriptase) de la télomérase. Cette étape d'activation de la télomérase rend la cellule immortelle et prédisposée à l'infection chronique à HPV et à la transformation cellulaire.

2.2.5.4 Transformation cellulaire [51,55]

La protéine E6 des HPV-HR peut lier et déstabiliser la MGMT (O(6)-méthylguanine méthyltransférase) et la protéine XRCC1, deux enzymes impliquées respectivement dans la réparation de l'ADN par excision de base et dans la réparation des cassures simple brin ainsi l'inhibition de la réparation de l'ADN favorisera l'instabilité génique.

La protéine E7 serait directement à l'origine de la duplication anormale des centrosomes, indépendamment de son action sur la p105Rb. Il en résulte un nombre anormal de centrosomes engendrant des faisceaux mitotiques aberrants à l'origine d'anomalies du nombre de chromosomes (aneuploïdie). Les cellules génétiquement instables accumulent des mutations supplémentaires favorisant la transformation cellulaire. Le domaine de liaison de la protéine E6 aux protéines à domaine PDZ est aussi déterminant pour son activité transformante.

En effet les protéines à domaine PDZ sont impliquées dans plusieurs fonctions dont la formation de canaux ioniques, la signalisation et l'adhérence cellulaire.

La protéine E6 cible notamment, en vue de leur dégradation, les protéines à domaine PDZ MAGI-1, 2 et 3, guanylate kinases impliquées dans la formation des jonctions serrées ce qui va entraîner la perte de la polarité cellulaire. Enfin, l'adhérence à la matrice extracellulaire est aussi perturbée. La paxilline, protéine adaptatrice de la transduction du signal entre les points de contact focaux et le cytosquelette d'actine, est une cible de la protéine E6 des HPV-HR. La dégradation de la paxilline favorisée par la protéine E6 va perturber l'architecture cellulaire.

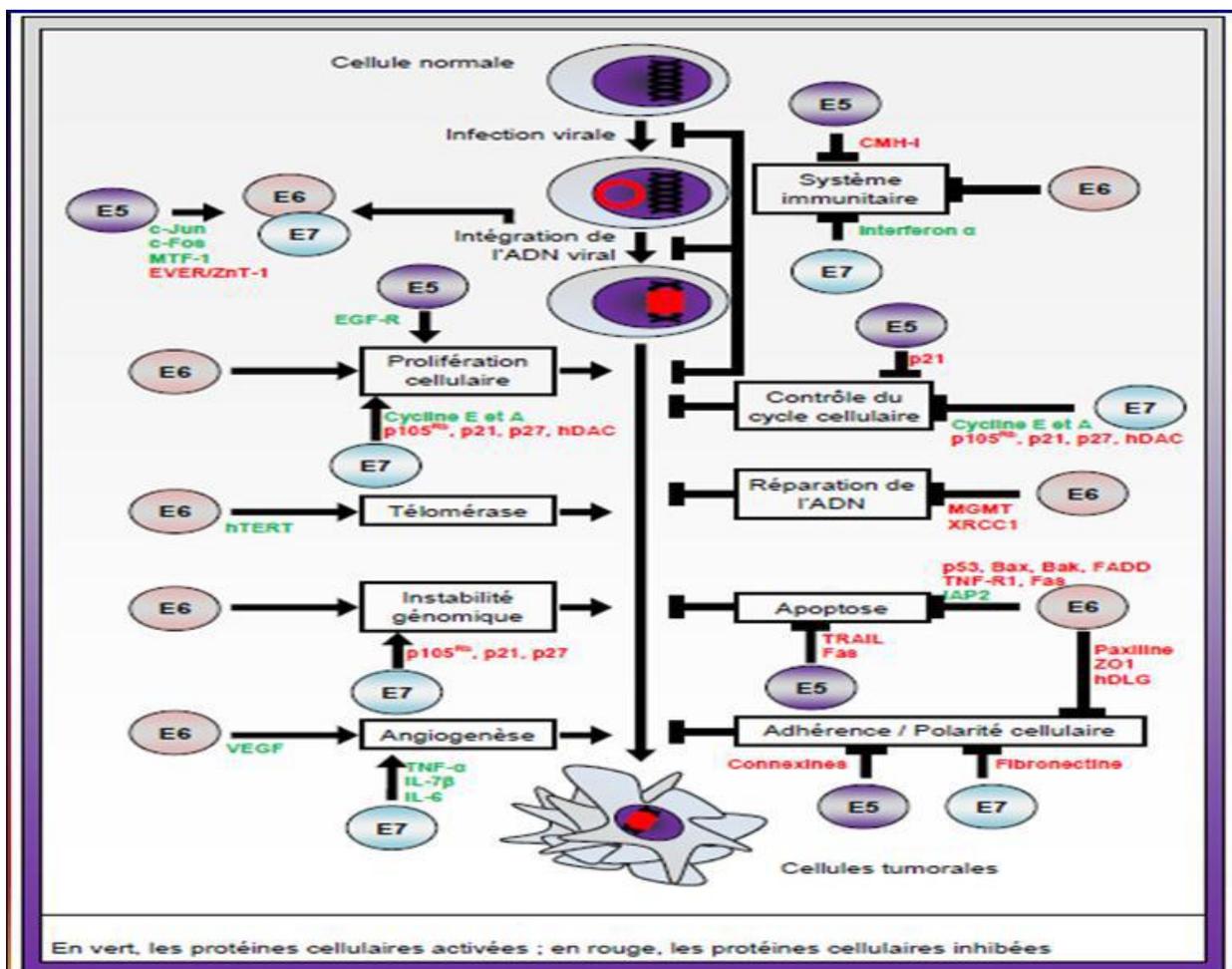


Figure 10 : Rôle des protéines E5, E6 et E7 dans la carcinogénèse des HPV [57]

2.2.5.5 Rôle de la protéine E5 dans le processus tumoral

La protéine E5 a une faible activité transformante par rapport à E6 et E7. En collaboration avec E7, E5 progresse le cycle cellulaire en agissant à la phase tardive du cycle viral, et contribue à l'augmentation de la capacité proliférative des kératinocytes humains ainsi que la réponse au facteur de croissance épidermique (EGF). La présence de ce facteur EGF avec l'expression de la protéine E5 entraîne l'augmentation de la phosphorylation de son récepteur EGF-R ce qui va stimuler les voies de signalisation mitogènes partant de ce récepteur [58].

2.2.6 Réponses immunes aux infections à HPV

Au cours du cycle viral, les virus pénètrent à la faveur d'une brèche de l'épithélium, dans les kératinocytes basaux des épithéliums malpighiens kératinisés ou non grâce à des récepteurs, et sont libérés par des cellules desquamatives. Ces virus apparaissent donc comme peu exposés au système immunitaire dirigé contre les antigènes viraux [59]. Néanmoins l'organisme développe une réponse immunitaire spécifique capable de s'opposer à la pénétration du virus dans la cellule et à sa persistance en réponse à l'infection du tractus génital par les HPV.

Schématiquement :

La réponse humorale se traduisant par la synthèse d'anticorps, spécifiques de types, dirigés contre les protéines structurales L1 et L2, détectables entre 4 mois et 5 ans après la première infection dans 50 à 80 % des cas [60] ; serait responsable de l'inactivation des particules virales ainsi que la prévention des réinfections des sites muqueux. Cette réponse associe une synthèse locale d'immunoglobulines et une transsudation d'immunoglobulines depuis le plasma, permettant de retrouver in situ de fortes concentrations d'Ig G et de faibles concentrations d'Ig A-S (Ig A sécrétoires) ainsi que de grandes quantités d'IL10.

Alors que la réponse cellulaire dirigée contre les protéines précoces éliminerait les cellules infectées, et permettrait la régression des lésions associées. Le nombre de lymphocytes CD4 serait supérieur à celui des lymphocytes CD8 dans les lésions régressives, alors que l'effet inverse est observé dans les lésions évolutives.

2.2.7 Échappement des HPV-HR au système immunitaire [59]

En plus du caractère de mauvais site inducteur et effecteur des réponses immunes du tractus génital féminin de nombreux mécanismes d'échappement des HPV sont identifiables, à différentes étapes de la réponse immunitaire, probablement liés entre autres :

✚ A la faible immunogénicité des HPV se traduisant par :

- ✓ Un défaut de lyse cellulaire et de réaction inflammatoire locale,
- ✓ Une faible production de protéines virales,
- ✓ L'altération de la réponse immune locale et inhibition de la synthèse, d'interféron par les protéines virales (E6, E7),
- ✓ La sous-expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH1)

✚ Le déficit de la cytotoxicité cellulaire dans les lésions de haut grade :

- ✓ Faible réponse cellulaire T aux protéines virales
- ✓ Déséquilibre de la balance Th 1/Th 2 au profit de la réponse Th 2 dans les lésions évolutives (CD4 non détectables).

2.2.8 Mode de transmission des papillomavirus [61]

Les infections génitales à HPV sont les infections sexuellement transmissibles les plus fréquentes et le comportement sexuel (nombre de partenaires, âge au premier rapport, changement de partenaires) est le principal facteur de risque pour la contamination par des HPV génitaux. D'après des études 70% des personnes sexuellement actives seront infectées au cours de leur vie [62,63].

Concernant les lésions cutanées associées aux HPV, elles sont transmises d'un individu à l'autre par contact direct de la peau ou par l'intermédiaire d'objets souillés. La transmission verticale de la mère à l'enfant se fait principalement lors du passage à travers la filière génitale par contact direct [64,65,66]. Il a été également montré que la transmission horizontale entre individus autres que sexuelle est possible bien que moins fréquente [67,68].

2.2.9 Épidémiologie des infections à HPV

L'infection virale par HPV est la plus commune des infections du tractus ano-génital, survenant le plus fréquemment chez les adolescentes et les jeunes femmes. Sa prévalence varie en fonction de l'âge avec un premier pic entre 20 et 25 ans correspondant au début de l'activité sexuelle et un deuxième plus petit vers 45-50 ans pour les HPV à haut risque [69,70]. Au contraire, l'incidence des types à bas risque décroît avec l'âge [59]. Cette prévalence varie aussi selon les pays, la population étudiée; néanmoins l'HPV est retrouvé en général au niveau du col de l'utérus chez 5 à 50 % des femmes asymptomatiques d'âge reproductif [71]. Une étude épidémiologique menée par l'International Agency for Research on Cancer (AIRC) sur 15000 femmes issues de 11 pays (Niger, Inde, Vietnam, Thaïlande, Corée, Colombie, Argentine, Chili, Pays Bas, Italie et Espagne) [72], montre que pour, tous âges confondus, la plus faible prévalence est retrouvée en Espagne (1,4%) et la plus élevée au Niger (25,6%). Parmi toutes les infections aux HPV, quelque soit le pays considéré, la prévalence est plus élevée pour les HPV à haut risque (66,8%) qu'à bas risque (27,7%). Le HPV le plus fréquemment retrouvé chez les personnes infectées est le HPV16 à haut risque (19,7%) [71].

2.3. Techniques de mise en évidence des HPV

Les papillomavirus ne sont ni cultivables *in vitro*, ni détectables par des tests sérologiques, mais la microscopie électronique permet de visualiser les particules virales complètes mais cette dernière s'avère lourde, peu sensible et non utilisable en routine. Les méthodes de détection qualitative et quantitative, ainsi que le typage de ces virus restent donc basés essentiellement sur les techniques de la biologie moléculaire permettant de mettre en évidence l'ADN viral. On distingue les techniques de détection de l'ADN viral sans amplification (techniques d'hybridation moléculaires) et après amplification par PCR.

2.3.1 Techniques d'hybridation moléculaire

2.3.1.1 Southern-Blot

La méthode du Southern blot, permet de détecter l'ADN viral dans les prélèvements génitaux et de préciser son type ainsi que son statut intégré ou non au génome cellulaire mais ne permet pas de détecter les nouveaux types. La technique est longue et nécessite une quantité suffisante de matériel biologique (minimum 10µg d'ADN).

2.3.1.2 Dot blot

Basé sur le même principe que le Southern blot à la différence qu'elle ne nécessite pas de digestion ni de migration électrophorétique de l'ADN viral. L'ADN est extrait puis directement déposé sur une membrane de nylon ou de nitrocellulose où il sera hybridé avec les sondes spécifiques. Le Dot blot est rapide, plus sensible par rapport au Southern-Blot mais manque de spécificité (faux positifs).

2.3.1.3 Hybridation in situ (HIS) (Chevalier, 1997)

L'hybridation in situ est réalisée sur frottis cellulaire et/ou coupes histologiques. Elle permet de préserver la morphologie du prélèvement et de localiser spécifiquement les cellules infectées donc d'établir des corrélations avec l'histopathologie. Elle ne nécessite pas d'extraction préalable d'ADN mais les

échantillons sont prétraités le plus souvent par des enzymes (de types protéinase k) pour mieux permettre l'accessibilité de la sonde à l'ADN nucléaire. Après hybridation, l'aspect du signal de révélation permet la localisation des cellules infectées et aussi de préjuger l'état de l'ADN viral dans le noyau : un signal ponctué est en faveur d'une intégration au génome cellulaire alors qu'un signal diffus et homogène évoque plutôt des formes libres de l'ADN viral dans les cellules. Cette technique est de réalisation aisée mais manque de sensibilité en particulier pour des formes cliniques évoluées (lésions de haut grade et carcinome) et présente un important problème de bruit de fond [72].

2.3.1.4 Hybridation en phase liquide : Test Hybrid Capture 2™

L'ADN est extrait et l'hybridation en phase liquide est réalisée entre l'ADN viral cible dénaturé et un « cocktail » de sondes ARN complémentaires de 13 HR-HPV (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39,45, 51, 52, 56, 58,59, 68). Les hybrides ADN-ARN formées sont reconnues par des anticorps anti- duplex couplés à une phosphatase alcaline (PAL).

En présence d'un substrat chimio luminescent, la PAL déclenche une émission de lumière détectée par un luminomètre. Le résultat est qualitatif : présence, ou non, d'HPV à haut risque oncogénique dans le prélèvement. C'est une méthode simple, rapide, très sensible reproductible et applicable en routine à de grandes séries.

2.3.2 Techniques d'amplification

2.3.2.1 Polymérase Chain Réaction conventionnelle

Très sensible, elle nécessite une étape d'extraction de l'ADN avant la réalisation de l'amplification à partir d'amorces consensus ou dégénérées, dirigées contre une région hautement conservée du génome (région L1) permettant de détecter théoriquement tous les types d'HPV muqueux que leur génotype soit connu ou non. Trois couples d'amorces restent les plus utilisées actuellement à savoir MY09/M11, GP5+/GP6+ et SPF (Figure 11).

La révélation du produit amplifié se fait par migration électrophorétique sur gel et visualisation de la bande de poids moléculaire attendu. Pour augmenter la sensibilité de la méthode, on peut utiliser 2 couples d'amorces en réalisant deux PCR successives (PCR nichée ou nested-PCR).

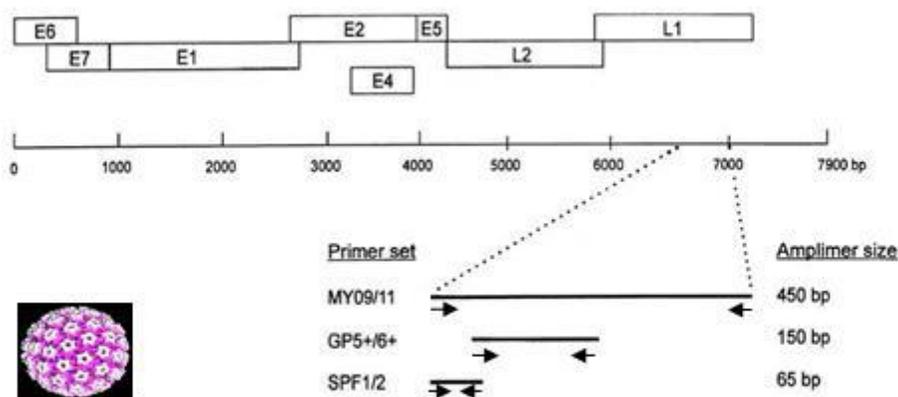


Figure 11 : Représentation schématique des différentes localisations des principales amorces consensus sur le génome d'HPV [44].

2.3.2.2 PCR spécifiques de types

Il faut autant de PCR et d'amorces que de types pour la réalisation de cette technique de génotypage. Faisant d'elle une méthode lourde à réaliser.

2.3.2.3 PCR quantitative

La PCR en temps réel permet de détecter la charge virale avec beaucoup de précision. Elle est optimisée avec le choix d'oligonucléotides spécifiques (au niveau de diverses séquences génomiques possibles des HPV) et des sondes marquées en fluorescence. La mesure finale de la fluorescence est proportionnelle à la quantité d'ADN viral.

2.3.3 Génotypage des HPV

Ces techniques comportent une étape d'amplification (PCR) d'un fragment d'ADN viral. Le choix de la région amplifiée est très important ; elle doit répondre à deux critères : la séquence d'ADN doit être suffisamment conservée aux extrémités afin de permettre une PCR de genre, mais divergente dans sa région interne pour permettre le génotypage par comparaison avec des séquences de génotypes connus.

On distingue principalement : le génotypage par sondes immobilisées sur bandelettes, par puce à ADN, par cytométrie à flux, par séquençage et par PCR en temps réel. Cette dernière permet de détecter le génotype d'HPV à haut risque, dont la distribution varie selon les zones géographiques, mais aussi peut facilement diagnostiquer les infections multiples.

2.4. Prophylaxie du cancer du col

La prévention secondaire par frottis a permis de faire reculer l'incidence du cancer du col utérin mais se heurte à des problèmes de couverture et d'efficacité [73,74].

Le cancer du col de l'utérus étant la conséquence ultime de l'infection chronique à papillomavirus, procure l'opportunité de le prévenir par vaccination antivirale.

L'approche vaccinale, définie dans le contexte actuel, vise deux principaux objectifs à savoir : vertus prophylactiques et vertus thérapeutiques.

Les vaccins thérapeutiques en cours de développement trouveront leur intérêt dans la lutte contre la progression des lésions précancéreuses vers le cancer invasif.

En effet le cancer du col est l'un des cancers rares qui évoluent en plusieurs étapes de gravité. Ainsi, le vaccin mis en place permettra un traitement par approche antivirale à un stade intermédiaire de l'évolution. Cependant, l'approche vaccinale préventive de l'infection reste la plus discutée. Ces vaccins ont été concrétisés avec la découverte dans les années 90 du phénomène d'auto-assemblage spontanée de la protéine structurale L1 pour former les VLPs (Virus Like Particules). Ces virus sont dépourvus de matériel génétique potentiellement oncogène mais présentent une morphologie voisine de celle du virus natif.

Il existe actuellement trois vaccins ayant eu une autorisation de mise sur le marché: Gardasil (produit par Sanofi Pasteur MSD) a l'AMM depuis Septembre 2006. C'est un vaccin anti HPV tétravalent, dirigé contre les HPV 6, 11, 16 et 18 responsables de 70% des lésions cancéreuses au niveau du col de l'utérus et 50% des CIN 2 et 3 et les HPV 6 et 11, responsables de 95% des verrues génitales externes, ou condylomes [75].

Cervarix (produit par GlaxoSmithKline) a l'AMM 20 Septembre 2007. C'est un vaccin bivalent, il protège contre les HPV 16 et 18.

Gardasil 9 (produit par Sanofi Pasteur MSD) a l'AMM depuis Juin 2015. C'est un vaccin anti HPV nonavalent, dirigé contre les HPV6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 et 58 [76].

Le mécanisme de protection de ces vaccins est commun, ils stimulent la production constante d'anticorps neutralisants qui se fixeront sur le déterminant L1 de la capsidie pour empêcher l'établissement de l'infection [100].

3. MATERIEL ET METHODES :

3.1 Cadre et lieu d'étude :

L'étude s'est déroulée dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques au CHU du Point-G (Bamako-Mali) en collaboration avec le Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA/LABIOGENE) de Ouagadougou (Burkina Faso).

Ce volet a consisté au génotypage des HPV des échantillons recueillis.

❖ Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques :

Etant le seul service public d'Anatomie et Cytologie pathologiques au Mali, où sont adressés la grande majorité des frottis, des liquides pour cytologie, des biopsies et des pièces opératoires, provenant de tout le pays. Les comptes rendus anatomo-pathologiques sont archivés et les résultats des cas de cancers sont enregistrés dans le registre des cancers.

En plus de ses activités de diagnostic, le service est aussi actif dans le domaine de la recherche. Il collabore notamment avec le C.I.R.C (Centre International de Recherche sur le Cancer).

Le personnel du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques se compose comme suit :

Un professeur titulaire, un maître de conférences Agrégé, un maître assistant, un praticien hospitalier, douze Médecins en spécialisation, trois techniciens supérieurs, une secrétaire, deux manœuvres et des étudiants en année de thèse.

Les locaux du service d'anatomie et cytologie pathologiques comportent :

Une salle d'accueil, une salle de prélèvement pour la cytologie, une salle de macroscopie, une salle du registre des cancers, deux salles de technique, une salle de réunion, une salle d'archivage, cinq bureaux, deux toilette.

3.2 Type et période d'étude :

Il s'agissait d'une étude prospective qui s'est déroulée du 1^{er} Janvier 2016 au 30 Avril 2017.

3.3 Population d'étude :

Elle était constituée par tous les cas de biopsie du col utérin.

3.3.1 Echantillonnage :

3.3.1.1 Critères d'inclusion : Ont été inclus

- Tous les cas de LIEHG (CIN2 et CIN3) et cancers invasifs du col utérin diagnostiqués à l'histologie avec étude moléculaire pendant la période d'étude.

3.3.1.2 Critères de non inclusion : N'ont pas été inclus

- Tous les cas de LIEHG (CIN2 et CIN3) et cancers invasifs diagnostiqués en dehors de la période d'étude.
- Tous les cas de LIEHG (CIN2 et CIN3) et cancers invasifs diagnostiqués à l'histologie pendant la période d'étude sans étude moléculaire.
- Tous les cas de LIEBG.

3.4 Procédure opérationnelle :

3.4.1 Matériel :

3.4.1.1 Matériel biologique :

L'étude a porté sur une série de 192 blocs de paraffine de lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin.

3.4.1.2 Réactif :

Pour la détermination des génotypes des HPV à haut risque par PCR à temps réel nous avons utilisé les réactifs suivants :

- FFPE DNA Purification Kit, pour l'extraction de l'ADN du HPV
- PCR-RT kit: « HPV génotypes 14 Real-TM Quant » de Sacace Biotechnologies S.r.l, Italie, pour l'amplification de l'ADN. Ce kit permet la détection de 14 génotypes HPV à haut risque (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56,58, 59, 66 et 68).

3.4.1.3 Appareillage :

Les coupes histologiques ont été faites par le microtome LEICA-RM-2135 L'appareil SaCycler-96 Real Time PCR v.7.3 de "Sacace Biotechnologie" a été utilisé pour l'amplification de l'ADN.

3.4.1.4 Prélèvement :

Les biopsies ont été réalisées sur des cols suspects à l'inspection visuelle après application d'acide acétique à 5 % (IVA) et de soluté de lugol (IVL) test de Schiller (Annexe 1) des femmes âgées de 20 à 72 ans se présentant dans les différents centres de dépistage. Les fragments de biopsie ont été immédiatement fixés au formol à 10% ensuite transportés au service d'anatomie pathologique où ils sont inclus dans des blocs de paraffine pour l'analyse histologique.

3.4.2 Méthodes :

3.4.2.1 Détection des génotypes du HPV

3.4.2.1.1 Extraction de l'ADN viral du HPV

L'extraction a été faite à l'aide du kit «FFPE DNA Purification Kit» de Norgen Biotek Corporation en suivant le protocole fourni par le fabricant (Annexe 2).

3.4.2.1.2 PCR en temps réel

Principe de la PCR en temps réel

Le principe de la PCR en temps réel repose sur le suivi cycle par cycle de la réaction d'amplification enzymatique au moyen d'une molécule rapporteur fluorescente capable d'émettre dans des conditions bien définies un rayonnement fluorescent dont l'intensité sera directement mesurée à un moment donné au cours de chaque cycle PCR. Nous avons réalisé une PCR en temps réel faite d'amplification multiplex de 4 tubes pour chaque échantillon. Chaque tube contient des amorces dirigées contre des régions de trois ou quatre (4) types HPV et du gène de la bêta-globine utilisé comme contrôle interne. Nous avons quatre types de fluorescences à savoir : *Fam* pour une fluorescence de couleur bleu, *Hex* pour une fluorescence de couleur verte, *Rox* pour une fluorescence de couleur jaune et *Cy5* pour une fluorescence de couleur orange.

Protocole de la PCR en temps réel

Préparation des échantillons pour l'amplification

Un mix constitué de 60 µl de Hot Start DNA Polymérase et 0,6 ml de PCR-buffer-FRT mélangé au vortex a été préparé. Cette préparation est valable pour 132 réactions et est stable durant 3 mois lorsqu'elle est conservée à 4°C.

Ce mix (DNA polymérase+ PCR-buffer-FRT) est équitablement ajouté dans quatre tubes PCR auquel on ajoute les PCR-mix-1 contenant les amorces des 14 génotypes recherchés et on obtient ainsi la réaction Mix.

Pour préparer cette réaction Mix nous avons suivi le protocole du kit « HPV Génotypes 14 Real-TM Quant » qui comprend quatre PCR-mix-1 à savoir : PCR-mix-1 « 16-18-31-IC » couvercle bleue ; PCR-mix-1 « 39-45-59-IC » couvercle incolore ; PCR-mix-1 « 33-35-56-68 » couvercle verte ; PCR-mix-1 « 51-52-58-66 » couvercle orange. Le volume de PCR-mix-1 et le volume de la préparation mix composée de PCR-buffet-FRT et de Polymérase ont été déterminés, selon le nombre d'échantillons, en suivant la figure 3 du protocole (SACACE, 2014).

La préparation finale pour la PCR est obtenue en ajoutant 15µl de Mix « 16, 18, 31, CI » dans le premier tube PCR, 15µl de Mix « 39, 45, 59, CI » dans le deuxième tube PCR, 15µl de Mix « 33, 35, 56, 68 » dans le troisième tube PCR et 15µl de Mix « 51, 52, 58, 66 » dans le quatrième tube PCR. Dans les quatre tubes PCR de chaque échantillon, nous y avons ajouté 10µl d'ADN de l'échantillon correspondant. Nous avons préparé un contrôle négatif et deux standards K1 et K2 qui représentent les contrôles positifs, en ajoutant 10µl de DNA-buffer dans les 4 tubes PCR correspondant au contrôle négatif et 10µl de Positive K1 et K2 dans les 4 tubes PCR correspondant à chaque contrôle positif (K1 et K2). Le volume réactionnel total est de 25µl.

L'amplification a été faite en utilisant le programme suivant (Tableau III)

Tableau III: Programme d'amplification sur SaCycler-96 pour la PCR-RT du HPV

Étapes	Température en °C	Temps	Répétitions
1	95 °C	15 min	1 cycle
2	95 °C	5 s	5 cycles
	60 °C	20 s	
	72 °C	15 s	
3	95 °C	5 s	40 cycles
	60 °C	30 s : détection du signal fluorescent	
	72 °C	15 s	

3.4.2.2 Interprétation des résultats de la PCR

L'interprétation des résultats a été faite à l'aide du Programme Microsoft Excel "HPV Typing Real-Time Results Matrix.xls" fourni par le fabricant. Le résultat de l'échantillon est invalide en cas d'absence de tout signal de fluorescence pour les contrôles positifs. Le résultat est valide si « negative amplification controls » n'a pas de signal de fluorescence et dans chacun des contrôles positifs, sont déterminés tous les signaux de fluorescence. Le résultat de l'échantillon est négatif si le signal du contrôle interne β -globine est détecté dans les deux premiers tubes de l'échantillon et positif si un signal des 4 fluorescences est détecté, excepté celui de Cy5 dans la première et deuxième rangée, qui est réservé pour le gène de détection β -globine humain.

3.4.2.3 Analyse des données

La saisie et l'analyse des données ont été effectuées sur le logiciel SPSS 18.0. Nous avons fait une saisie simple des textes, des tableaux et des graphiques sur les logiciels Word et Excel 2016 de Microsoft. Comme test statistique, nous avons utilisé le test exact de FISHER avec pour seuil de signification $p < 0,05$.

3.4.2.4 Considérations éthiques

Nous avons eu l'autorisation des responsables du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU-Point G. Les informations recueillies resteront strictement confidentielles et anonymes.

4. RESULTATS :

Résultats descriptifs

Tableau IV: La fréquence de l'infection à HPV

Test HPV	Fréquence	Pourcentage (%)
Positif	83	43,2
Négatif	109	56,8
Total	192	100

Parmi les 192 femmes ayant bénéficié du test HPV, 83 sont positives soit **43,2%**.

Tableau V: Répartition selon le type de HPV

Types de HPV	Fréquence	Pourcentage (%)
HPV18	18	16,36
HPV45	18	16,36
HPV33	15	13,63
HPV31	14	12,72
HPV16	9	8,18
HPV35	9	8,18
HPV52	7	6,32
HPV39	5	4,54
HPV56	4	3,63
HPV58	3	2,72
HPV59	3	2,72
HPV66	3	2,72
HPV51	2	1,81
Total	110	100

Parmi les cas positifs à l'HPV ; HPV18 et HPV45 ont prédominé avec **16,3%** chacun.

Tableau VI: Répartition en fonction des infections uniques ou multiples

Type d'infection	Fréquence	Pourcentage (%)
Unique	64	77,1
Multiple	19	22,9
Total	83	100

Parmi les 83 cas à HPV positifs, 64 cas étaient infectés par un seul type d'HPV soit **77,1%** et 19 cas par deux ou plusieurs types d'HPV soit **22,9%** des cas.

HPV16 et HPV18 ont été les plus représentés dans les infections avec un seul type d'HPV avec 18 cas soit **28,1%** chacun.

Tableau VII: Répartition des cas selon la tranche d'âge

Tranche d'âge	Fréquence	Pourcentage (%)
15 - 30 ans	24	28,9
31 - 45 ans	29	34,9
46 - 60 ans	18	21,7
61 - 75 ans	12	14,5
Total	83	100

La tranche d'âge la plus représentée était celle de 31 – 45 ans avec des extrêmes de 20 et 72 ans. La moyenne d'âge était de **41,2 ± 14,3**.

Tableau VIII: Répartition des cas selon la contraception

Contraception	Fréquence	Pourcentage (%)
Oui	37	47,4
Non	41	52,6
Total	78	100

N= 78

Une notion de contraception a été retrouvée chez 37 femmes soit **47,4%**.

Tableau IX: Répartition des cas selon la parité

Parité	Fréquence	Pourcentage (%)
Nullipare	6	7,4
Primipare	7	8,6
Paucipare	22	27,2
Multipare	25	30,9
Grande multipare	21	25,9
Total	81	100

N=81

La majorité des femmes avec un HPV positif était des multipares avec **30,9%** des cas.

Seulement 7,4% étaient nullipares.

- Nullipare : 0 accouchement
- Primipare : 1 accouchement
- Paucipare : 2 à 3 accouchements
- Multipare : 4 à 5 accouchements
- Grande multipare : ≥ 6 accouchements

Tableau X : Répartition des cas selon le régime matrimonial

Partenaire polygame	Fréquence	Pourcentage (%)
Oui	29	39,2
Non	45	60,8
Total	74	100

N= 74

Sur 74 femmes, 29 avaient un partenaire polygame avec **39,2%** des cas.

Tableau XI : Répartition des cas selon le résultat histologique

Type histologique	Fréquence	Pourcentage (%)
CIN2	35	42,2
CIN3	13	15,7
Carcinome épidermoïde	32	38,6
Adénocarcinome	3	3,6
Total	83	100

Le type histologique le plus représenté était CIN2 soit de **42,2%**.

Résultats analytiques

Tableau XII: Répartition des femmes selon la contraception et le type histologique

Type histologique	Contraception		Total
	Oui	Non	
CIN2	21	14	35
CIN3	5	7	12
Carcinome épidermoïde	10	18	28
Adénocarcinome	1	2	3
Total	37	41	78

N=78

khi-carré = 4,15 avec p=0,05

Parmi les femmes avec une notion de contraception **70,27%** avaient une LIEHG (CIN2 et CIN3).

Tableau XIII : Répartition selon le test HPV et la tranche d'âge

Tranche d'âge	Test HPV		Total
	Positif	Négatif	
15 - 30 ans	24	23	47
31 - 45 ans	29	49	78
46 - 60 ans	18	29	47
61 - 75 ans	12	7	19
76 - 90 ans	0	1	1
Total	83	109	192

Khi-carré = 6,64 avec un p=0,96

Parmi les cas positifs la tranche d'âge la plus représentée était de **31-45 ans** avec 29 cas soit **34,9%** sans rapport statistique significatif.

Tableau XIV : Répartition selon le type histologique et le type HPV

Type HPV	Type histologique				Total
	CIN2	CIN3	Carcinome épidermoïde	Adénocarcinome	
HPV16	2	2	5	0	9
HPV18	9	0	8	1	18
HPV31	5	4	5	0	14
HPV33	6	4	5	0	15
HPV35	3	4	2	0	9
HPV39	3	1	1	0	5
HPV45	10	3	4	1	18
HPV51	0	1	1	0	2
HPV52	3	0	3	1	7
HPV56	0	1	3	0	4
HPV58	0	0	3	0	3
HPV59	2	1	0	0	3
HPV66	2	1	0	0	3
Total	45	22	40	3	110

Khi-carré =71,70 avec $p= 0,73$

Dans les lésions intra-épithéliales de haut grade (LIEHG) et dans le cancer épidermoïde, les types HPV18 et HPV45 ont été les plus représentés avec un total de 17 cas chacun soit **15,8 %**.

Seulement 3 cas d'HPV (HPV18, HPV45, HPV52) ont été retrouvés dans les adénocarcinomes.

Tableau XV : Répartition selon le type histologique et la tranche d'âge

Tranche d'âge	Type histologique				Total
	CIN2	CIN3	Carcinome épidermoïde	Adénocarcinome	
15 - 30 ans	14	5	5	0	24
31 - 45 ans	12	6	9	2	29
46 - 60 ans	6	1	11	0	18
61 - 75 ans	3	1	7	1	12
Total	35	13	32	3	83

Khi-carré = 14,22 avec un $p= 0,05$

Les LIEHG (CIN2 et CIN3) ont prédominé dans la tranche 15 - 45 ans avec **44,5%** et les cancers invasifs dans la tranche d'âge 46 – 75 ans avec **22,8%**. Le test *khi-carré* est significatif.

5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION :

Au Mali, comme dans les autres pays en voie de développement, le cancer du col constitue le premier cancer féminin et la première cause de mortalité par cancer chez les femmes. L'insuffisance de personnel compétent, l'absence de politique et de programme efficace de dépistage expliquent en grande partie les taux élevés de prévalence et de mortalité liées au cancer du col de l'utérus au Mali. Par ailleurs, le manque d'information, l'accès difficile aux centres de dépistage font que la majorité des femmes ne consultent que lorsque le cancer est à un stade avancé.

Ainsi, la prévention primaire du cancer du col utérin reposant essentiellement sur des modes de vie sains et sur la vaccination contre le HPV reste un moyen très important de lutte contre cette maladie. Néanmoins, pour augmenter l'efficacité d'un tel programme, il est primordial de comprendre la distribution et la prévalence des HPV à haut risque au sein de la population qui semble très différente d'une région à une autre.

Dans ce présent travail mené sur un échantillonnage de 192 biopsies de lésions précancéreuses et cancéreuses prélevées chez une population de femmes maliennes, nous nous sommes fixé comme objectif de caractériser les différents types d'HPV à haut risque oncogènes en circulation au Mali.

Le profil anatomopathologique de toutes les biopsies correspondait essentiellement à des cas de lésions intra-épithéliales de haut grade et des cancers invasifs (carcinome épidermoïdes et adénocarcinomes).

Étant donné que les papillomavirus ne sont ni cultivables *in vitro*, ni détectables par des tests sérologiques, les techniques de la biologie moléculaire représentent un outil de choix pour leur détection et leur génotypage.

Ainsi des PCR en temps réel ont été choisis comme approche moléculaire. Ainsi notre étude a permis de mettre en évidence 13 génotypes à haut risque sur les 14 recherchés.

✓ **La fréquence de l'infection à HPV**

Le HPV à haut risque a été détecté sur 43,22% (83/192) des lésions cervicales. Dans une étude menée à Ouagadougou (Burkina Faso) en 2015 Bado Prosper avait trouvé 69,5% (41/59) [77]. Steinau et al., 2011 ont trouvé 77,6% (94/121) [78]. Dans notre étude, cette fréquence plus basse pourrait s'expliquer principalement non seulement par l'excès de paraffine qui influence négativement l'extraction de l'ADN mais aussi la manière de conservation des blocs de paraffine. En effet, en comparant deux méthodes de déparaffinage Steinau et al., ont obtenu des résultats meilleurs avec la technique de déparaffinage par chauffage, qui a consisté à fondre la paraffine sous la chaleur, que celle utilisant le xylène Steinau *et al.*, 2011 [78].

✓ **Génotypage des virus HPV**

Nous avons trouvé 13 génotypes des HPV à haut risque sur les 14 recherchés, dans les blocs de paraffines. Ce nombre est nettement inférieur à celui trouvé par Ntekim et al en 2012 [79] à l'issue d'un génotypage des HPV, dans les cancers, en Afrique sub-saharienne, qui avaient trouvé 15 ; un (1) génotype de plus que ceux nous avons recherché. Prosper Bado (Burkina Faso) [77] dans étude avait trouvé 11 génotypes sur 14.

Dans notre étude les génotypes les plus fréquents étaient, par ordre décroissant, HPV18 (16,3%), HPV45 (16,3%), HPV33 (13,6%), HPV31 (12,7%) et HPV16,35 (8,1%).

Antérieurement, au Burkina Faso, Djigma et al [80] avaient identifié chez 250 femmes HIV+ les HPV18 (25%); HPV50'S (25,5%); HPV30'S (20,8%); HPV16 (4,7%); HPV45 (3,7%).

Au Benin, Piras et al en 2011[81] en cherchant la prévalence des HPV chez les femmes, avaient trouvé des résultats semblables : HPV59 (24.6%), HPV35 (22.5%), HPV16 (17.6%), HPV18 (14.8%), HPV58(13.4%), HPV45 (9.9%), HPV56 (8.4%). Ces résultats indiquent tous une fréquence élevée des HR-HPV autres que les HPV16 et 18. Par contre, une étude sur la prévalence des HR-HPV dans les tumeurs en France et au Mozambique avait noté une nette prédominance de HPV16 et 18 (Jacquard *et al.*, 2010 ; Naucler *et al.*, 2004) [82,83] et une fréquence non moins importante de HPV33 (Naucler *et al.*, 2004) [83]. Cependant, au Burkina Faso, une étude sur une population de femmes dont le statut pathologique du col utérin était inconnu et qui a porté sur des prélèvements cellulaires cervicaux, avait rapporté l'absence du HPV33 (Zohoncon et al., 2013) [84].

✓ Prévalence des infections uniques et multiples

Les infections avec un seul type d'HPV étaient majoritaires avec 77,1% (64/83). Les lésions avec deux ou plusieurs type d'HPV ont représenté 22,9% (19/83). Parmi les femmes qui étaient infectées par un seul génotype nous avons retrouvé le HPV16 et 18 dans 28,12% (18/64) et les HPV31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 dans 71,8% (46/64). C'est donc une fraction importante non prise en compte par les deux vaccins. En Guinée, au Sénégal et à Kinshasa, les HPV 16 et 18 représentaient 44,4%, 43,7% et 25% de l'ensemble des infections à HPV (Ali-Risasi *et al.*, 2008 ; Karly *et al.*, 2009) [85,86].

De nos jours, il apparaît que le profil de distribution et la fréquence des types HPV en Afrique paraient différents de ceux observés de par le monde. En Afrique cette situation est aussi disparate selon les pays [86,87].

Sur le plan de la santé publique, une prévalence de 2/5 pourrait être significative si elle se confirmait par des études plus larges. Il était donc à craindre que celle-ci allait avoir un retentissement négatif sur l'efficacité des deux vaccins employés du fait de leur sélectivité.

Les résultats de notre étude indiquent une distribution et prévalence différente avec ceux d'autres pays. Sanjosé *et al.* en 2007 et Bosch *et al.* en 2008 [88,89] avaient déjà noté cette disparité à travers le monde. Ils remarquaient que chez les femmes à cytologie normale et chez celles à cytologie anormale ou ayant le cancer du col de l'utérus, HPV16 était le plus fréquent suivi de HPV18 en Europe, en Amérique centrale et du sud. En Afrique et en Amérique du nord HPV16 était respectivement suivi par HPV52-58 et HPV52-53 (Sanjosé *et al.*, 2007 ; Bosch *et al.*, 2008). Plus précisément au Nigeria HPV16 était suivi par les HPV31 et 35 (Thomas *et al.*, 2004) [90].

✓ **Tranche d'âge**

La tranche d'âge 31 - 45 ans était la plus représentée dans notre population d'étude avec une fréquence de (34,9%) suivie des tranches d'âge 15 – 30 ans (28,9%) ; 46 – 60 ans (21,7%) et 61 – 75 ans (14,5%). Nos observations sont superposables à celles d'une étude menée en milieu Africain sur des cas de cancer histologiquement confirmés, selon laquelle la moyenne d'âge des patientes était de 48, 5 ans avec un pic dans la tranche d'âge de 41 - 50 ans, soit 38,1% [91]. En effet ces chiffres correspondent à l'âge des patientes au moment du diagnostic de la maladie. Par ailleurs de récentes observations semblent indiquer que l'âge moyen

de détection du cancer invasif du col utérin, pourrait se situer actuellement aux alentours de 45-74 ans. Par contre dans les pays où le dépistage est organisé le cancer invasif est découvert à un âge moyen de 55 ans [92,93].

✓ Répartition des cas selon la contraception

Vu le caractère rétrospectif de notre étude nous n'avons pas pu trouvé des données sur la contraception chez toutes les femmes avec un résultat positif. Cependant chez 78/83 nous avons trouvés des données de contraception. Parmi les 78 femmes 37 avaient une notion de contraception avec un pourcentage de 47,4% contre 52,6%.

En ce qui concerne l'utilisation de contraception, certains auteurs pensent que l'utilisation à long terme de contraceptifs oraux pourrait être associée à un risque légèrement accru du cancer du col et le risque serait de 100% pour une utilisation de 10 ans et plus [94].

Dans notre étude, vu la faible taille de l'échantillonnage nous n'avons pas pu mettre en évidence le lien entre l'utilisation de contraception et le développement du cancer du col.

✓ Répartition des cas selon la parité

Dans notre étude la majorité des femmes avec un HPV positif était des multipares avec 30.9% ; seulement 7.4% était nullipare.

Nos observations sont conformes avec plusieurs études, (David et al. [95]. Bayo et al. [96], Munoz et al. [97]) , ont rapporté une augmentation du risque de cancer du col chez les multipares.

L'explication probable est donnée par Autier et al. [98], qui pensent que les accouchements multiples maintiennent une zone de transformation sur l'exocol pendant plusieurs années, facilitant ainsi l'exposition directe au HPV. Par ailleurs les changements hormonaux induits par la grossesse (augmentation du taux d'œstrogène et de progestérone) semblent avoir une influence sur le risque de persistance ou de progression de l'infection [97,99].

CONCLUSION :

La situation du cancer du col dans le monde et surtout dans les pays en développement comme le Mali, reste dramatique faisant de lui un vrai problème de santé reproductive féminine.

Nous avons caractérisé par PCR en temps réel, 13 génotypes HR-HPV dans un échantillon de 83 tissus de lésions précancéreuses et cancéreuses du col de l'utérus sur un total de 192 cas collectés, au CHU- Point G. Parmi les cas positifs, les femmes constituant l'échantillon avait un âge moyen de 41,29 +/- 14,37 ans avec des extrêmes de 20 et 72 ans. Notre étude a montré la présence de 13 génotypes de HPV à haut risque sur les 14 recherchés, dans les LIEHG et les cancers invasifs à Bamako (Mali). Ainsi, HPV18, HPV45, HPV33, HPV31 et HPV16, HPV35 représentaient les génotypes les plus fréquents par ordre décroissant. Les fréquences d'infections uniques et multiples étaient respectivement de 77,1 et 22,9%. Ces données méritent d'être confirmées en élargissant l'échantillon et en utilisant d'autres techniques d'extractions plus appropriées afin d'améliorer le diagnostic moléculaire des HPV à haut risque dans des blocs de paraffine.

PERSPECTIVES :

Connaitre la distribution et la prévalence des types d'HPV à haut risque au sein de la population malienne, constitue une étape primordiale pour mieux identifier les stratégies et interventions qui seront les plus susceptibles d'avoir un impact réel dans la lutte contre le cancer du col.

C'est dans cette visée que nous envisageons de

- Travailler sur un échantillonnage de taille plus importante et plus varié pour mieux déterminer la prévalence des génotypes d'HPV circulant au Mali,
- Répertorier l'ensemble des mutations et caractériser les variants des HPV-HR circulant au Mali,
- Faire le dépistage de l'infection à HPV chez les hommes;
- Œuvrer pour que l'approche moléculaire fasse partir de l'arsenal des techniques utilisées dans le dépistage du cancer du col pour une meilleure prise en charge de cette maladie.

RECOMMANDATIONS :

Aux autorités politico-administratives et sanitaires :

- ❖ Intensifier les campagnes d'information, d'éducation et de sensibilisation sur les infections à HPV et le cancer du col de l'utérus à l'endroit des femmes mais aussi des hommes ;
- ❖ Intensifier les campagnes de dépistage des lésions précancéreuses du col de l'utérus et instaurer des campagnes de dépistage de l'HPV par la PCR en temps réel ;
- ❖ Réaliser une cartographie à l'échelle nationale, des génotypes d'HPV et de mettre à disposition, de nouveaux vaccins polyvalents anti- HPV couvrant tous les génotypes à haut risque.

A la population :

- ❖ Faire le dépistage de l'infection à HPV et du cancer du col de l'utérus périodiquement ;
- ❖ Eviter au mieux les facteurs de risque de l'infection par le HPV.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

1. Adjahoto IO.

Etude de faisabilité du dépistage du cancer du col de l'utérus par l'inspection visuelle à l'acide acétique puis au lugol, à propos de 565 femmes dépistées à l'hôpital de la mère et de l'enfant Lagune (HOMEL) de Cotonou. Thèse de Médecine, Cotonou, 2003.

2. Anonyme.

New England Journal of Medicine (NEJM) 2003; 348: 518-527.

3. Baldauf J J, Drefus M, Ritter J, Philipe E.

An analysis of the factor involved the diagnostic accuracy of colposcopically directed biopsy. *Acta obst et gynecol Scand* 1997 ; 76 : 468-473.

4. Bastian H, CinquinPh, Cayot F, Cabanne F, Mottot C.

Le frottis cervico-vaginal de dépistage. *Encycl Med Chir; Paris; Gynecologie*, 73 B10, 6 - 1983, 5p.

5. BasuPS ,Sankaranarayanan R , Mandal R , Roy C , Choudhury D et al.

Visual inspection with acetic acid and cytology in The early detection of cervical neoplasia in kolkata, India. *Int Gynecol cancer* 2003, 13, 626-632.

6. BelinsonJL , Pretorius RG , Zhang WH, Wu Ly, Qiao YL , andElson P.

Cervical cancer screening by simple visual inspection after acetic acid obst et Gynecol 2001; 98: 441- 444.

7. Mounkoro N. Les cancers génitaux de la femme au Mali (Oct. 1984 à Oct. 1985 à propos de 32 cas). Thèse de Méd, Bamako,1985 ;N° 85-M-12. P86.

8. Tégoué I.

Prise en charge des néoplasies intra épithéliales du col (CIN). A propos d'une étude rétrospective de 331 cas sur une période de 10 ans. Mémoire de fin de stage de gynécologie et obstétrique ; Cotonou 2002 ; P10.

9. Traoré C B, Coulibaly B, Kamaté B, et al.

Le cancer à Bamako de 2002 à 2012 ; données du registre des cancers. Rev. Afr de pathol 2012 6M ; 11(1) : 3-8.

10. Chirenje ZM, Chipato T, Kasule J, Rusakaniko S, Gaffikin, Blumenthal P,

Sanghv1. Visual inspection of the cervix as a primary means of cervical cancer screening: results of a pilot study. Central African journal of medicine 1999; 2 (45): 30-33.

11. Lalaoui, 2004/in Ban Traoré/ Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.

12. Smith JS et al. 2007, Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: A meta-analysis update. Int J Cancer; 121:621-632.

13.(source:www.dicos.enslyon.fr/vie/viro/XML/db/bio/viro/metadata/LOMV05_2D1_Papilloma_Epidemio_Patho.b.xml)

14. N'guessan K, Kouakou F, Loué V, Angoi V, Abauleth Y, Boni S. 2009 Le cancer du col de l'utérus : Aspects épidémiologiques et prise en charge en milieu africain; Mali médical tome XXIV (3), 27 : 27-30

15. Karly S. Louie, Silvia de Sanjose, and Philippe Mayaud; 2009 ;

Epidemiology and prevention of human papillomavirus and cervical cancer in sub Saharan Africa: a comprehensive review; Tropical Medicine and International Health, 14 (10) pp 1287–1302., p:1288

16. Agence pour le développement de l'évaluation médicale ; 1997 Bases méthodologiques pour leur réalisation en France Paris : ADEM

17. Registre du cancer du Mali. Résultats standardisés 1997-2001.

18. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM, International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2002 Database: Cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Lyon, France: IARC Press, 2004. Availableat: www.dep.iarc.fr/globocan/database.htm.

19. J.Poirier, J.-L.Ribadeau Dumas. Abrégés d'histologie 4eme édition revue et corrigée. Masson ; Paris 1993.

20. Riotton G., Chistpherson W.M. : Classification histologique internationale des tumeurs .Cytologie de l'appareil génital féminin, édition Root-Sagag,Genève ,OMS 2003.

21. . <http://www.gsk.fr/gsk/votresante/cancercoluterus/comprendre.htm>, http://umvf.univ-nantes.fr/gynecologie-et-obstetrique/enseignement/item147_3/site/html/1.html/ **in Ban Traoré/** Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.

22. P. Tranbaloc 2008 .Histoire naturelle des lésions précurseurs du cancer du col uterin Natural history of precursor lesions of cervical cancer ; Gynécologie Obstétrique & Fertilité (36) 650–655 p : 650.

23. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. J Natl Cancer Inst 1999; 91:252.

24. McIndoe WA, McLean MR, Jones RW,Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. Obstet Gynecol 1984;64:451.

- 25. Kiviat NB, Critchlow CW, Kurman RJ.** Reassessment of the morphological continuum of cervical intraepithelial lesions: does it reflect different stages in the progression to cervical carcinoma? IARC Sci Publ 1992; 119:59–66.
- 26. Dr. Karine Faure Lille** MCU-PH Unité des Maladies Infectieuses Service de Gestion du Risque Infectieux et des Vigilances
- 27. Centre International de Recherche sur le Cancer OMS.** Rapport bienale 1996-1997
- 28. J.Poirier, J.-L.Ribadeau Dumas.** Abrégés d'histologie 4eme édition revue et corrigée. Masson ; Paris 1993
- 29. Grodzki M, Besson G, Clavel C, Arslan A, Franceschi S, Birembaut P, et al. (2006):** Increased risk for cervical disease progression of French women infected with the human papillomavirus type 16 E6-350G variant. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 15(4):820-2.
- 30. Muñoz N, Castellsague X, de Gonzalez AB, Gissmann L (2006) :** Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. Vaccine 24(Suppl 3):S1-S10
- 31. (International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer.,2007).**
- 32. Edith Akom, M. Sc., Sylvie Venne, M.D., M. Sc.,;** L'infection au virus du papillome humain (VPH) ; INSPQ-2003-023 ; 1-131 ; P :27
- 33. Ciraru N., Vignerou, Ferrand.**Cancers du col de l'utérus.Im, Méd, Phys. Biol. Hum. 1999, 11.
- 34. Fossat C.** Les autres facteurs de risque du cancer du col utérin. Medscape women health. Mars 2004. <http://gynweb.com>
- 35. Delvenne P., Jacobs N., Lambert C., Doyen, Kridelka F.** Le dépistage du cancer du col de l'utérus en Belgique : le point en 2003.Rev . med . Liège, 2003, 58, 316-18

- 36. Thiry L., Vokaer R., Deteremmerie O., Shopper N., Bollen A.** Le tabagisme augmente le risque du cancer du col. THS, Septembre 2001, 3, p11.
- 37. Carcopino X, et al.** Détection et quantification des infections génitales à papillomavirus humains : conséquences virologiques, épidémiologiques et cliniques. Med Mal Infect (2010), doi:10.1016/j.medmal.2010.07.013
- 38. Douvier S, Dalac S.** Infections à papillomavirus: Human papillomavirus. EMC-Maladies Infectieuses 2004; 1: 235-261
- 39. Strauss MJ, Bunting H, Melnick JL.** Virus-like particles and inclusion bodies in skin papillomas. J Invest Dermatol 1950; 15 : 433-43. 433-43
- 40. S. Douvier, S. Dalac, 2004.,** Infections à papillomavirus Encyclopédie Médico-Chirurgicale 8-054-A-10 ; p :2
- 41. Ennaji My Mustapha & Meryem Meftah El Khair 2008,** Infection par le virus du papillome humain "HPV" et le cancer du col, les technologies de laboratoires(8) ; 5-11 ; P :6
- 42. J Bodily, LA Laimins.** Trends Microbiol, 2011, 19: 33-39)
- 43. Figure 7 : A/ inature.canalblog.com/images/ 20051213_01.gif// in Ban Traoré/** Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.
- 44. Monsenego J. 2006.** Infections à papillomavirus: état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale, Paris, Springer.
- 45. D'abramo, C. M. & Archambault, J. 2011.** Small molecule inhibitors of human papillomavirus protein - protein interactions. Open Virol J, 5, 80-95.
- 46. (Michel Segondya,* ;** Classification des papillomavirus (HPV) ; revue Francophone des laboratoires – Septembre- Octobre 2008 - N°405 ; 23 -25)
- 47. E.M. de Villiers, C. Fauquet, T.R. Broker, H.U. Bernard and H. zur Hausen,** Classification of papillomaviruses, Virology 324 (1) (2004), pp. 17–27.

- 48. Michel Segondya, 2008 ;** Classification des papillomavirus (HPV) ; revue Francophone des laboratoires, N°405 :23-25 ; P : 24
- 49.** Villiers et al, Virology, 2004, 324: 17-27
- 50. Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA.** Identification of the α integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. J Virol 1997; 71: 2449-2456.
- 51. Christiane Mougina,* , Magali Nicoliera, Anne-Zélie Decrion-Barthod, 2008 ;** Mécanismes de l'oncogénèse ; revue Francophone des laboratoires, N°405 , 35-42 ; p : 38
- 52. S. Douvier, S. Dalac, 2004.,** Infections à papillomavirus Encyclopédie Médico-Chirurgicale 8-054-A-10 ; p :3
- 53. Douvier S, Dalac S.** Infections à papillomavirus: Human papillomavirus. EMC-Maladies Infectieuses 2004; 1: 235-26.
- 54. Ennaji My Mustapha&Meryem Meftah El Khair 2008,** Infection par le virus du papillome humain "HPV" et le cancer du col, les technologies de laboratoires(8) ; 5-11 ; P :8
- 55. Christiane Mougina,* , Magali Nicoliera, Anne-Zélie Decrion-Barthod, 2008 ;** Mécanismes de l'oncogénèse ; revue Francophone des laboratoires, N°405, 35-42 ; p : 39
- 56. Munger K., Baldwin A., Edwards K.M., Hayakawa H., Nguyen C.L., Owens M., Grace M., Huh K.,** Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis, J. Virol. 78 (21) (2004) 11451-11460.
- 57. Figure 10 : Rôle des protéines E5, E6 et E7 dans la carcinogénèse des HPV/ in Ban Traoré/** Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.

- 58.** The human papillomavirus HPV6 and HPV 16 E5 proteins co-operate with HPV16 E7 in the transformation of primary rodent cells 1995, *J. Gen. Virol.* 76 (pt5), 1239-1245
- 59. F. Denis , S. Hanz, S. Alain Clairance,** persistance et récurrence de l'infection à Papillomavirus ; *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36 (2008) 430–440 ;P :433
- 60. Carter JJ, Koutsky LA, Hughes JP, Leesk, Kuypers j, Kiviat N et al.** Comparison of human papillomavirus type 16, 18 and 6, capsid antibody responses following incident infection. *J Infect Dis* 2000, 181, 1911-19.
- 61. In Ban Traoré/**Genotypage des virus du papillome humain oncogène en circulation au Mali : Master en sciences et techniques.
- 62.** Crook T, et al Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans activation. *cell.* 1991;67, : 547-556.
- 63. Cucherousset J, Bory J, Nazeyrollas et al .** Intérêt du typage HPV dans le dépistage primaire du cancer du col: une expérience sur une série de 10 569 femmes. *Gynécologie Pratique*2003;153 : 8-16
- 64. Cason J, Mant C.** High-risk mucosal human papillomavirus infections during infancy & childhood. *J Clin Virol* 2005;32S: S52- S58.
- 65. Tenti P, Zappatore R, Migliora P, et al** Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 475-479
- 66. Tseng CJ, Liang CC, et al .** Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: Relationship between infection rate and mode of delivery. *Obstet Gynecol*1998; 91: 92-96
- 67. Sonnex C, Strauss S, Gray JJ.** Detection of human papillomavirus DNA on the fingers of patients with genital warts *Sex Transm Infect* 1999; 75: 317-9.

- 68. Lacey CJ. Genital warts in children. In: Lacey CJ editor,** Papillomavirus reviews: current research on papillomaviruses. Leeds: Leeds University Press; 1996.291-6
- 69. Trottier,H. and E.L.Franco,** The epidemiology of genital human papillomavirus infection . Vaccine.2006,24 Suppl 1: P.S1-15.
- 70. Meisels,A.,** Cytologic diagnosis of human papillomavirus. Influence of age and pregnancy stage. Acta Cytol, 1992. 36(4):p.480-2.
- 71. Edith Akom, M. Sc., Sylvie Venne, M.D., M. Sc.,;** L'infection au virus du papillome humain (VPH) ; INSPQ-2003-023 ; 1-131 ; P :7
- 72. Clifford et al ; Mathew, 2000 ; Schiller JT,2004/ in Ban Traoré/** Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.
- 73. Duport N.** Dépistage organisé du cancer du col de l'utérus. Evaluation épidémiologique des quatre départements pilotes. InVS- Institut de veille sanitaire [en ligne]. Juin 2007. Disponible sur <http://www.invs.sante.fr> (Consulté le 12 septembre 2010)
- 74. Rouzier R.** La prévention du cancer du col de l'utérus. La revue du praticien médecin générale. Nov. 2007, tome 21 N° 788/789, p. 1041-1042.
- 75. HAS-** Haute autorité de santé. [En ligne] Recommandation du Collège de la HAS sur les vaccins anti-HPV. Avril 2008. Disponible sur: <http://www.has-sante.fr> (Consulté le 25 avril 2010)
- 76. Food and DRUG administration/**<https://www.fda.gov/downloads/Biologies/Bloodvaccines/ApprovedProduct/UCM426457.pdf>
- 77. Prosper BADO mémoire 2015** Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso).www.cerbafaso.org

78. Steinau, M., Patel, S. S. & Unger, E. R. 2011. Efficient DNA extraction for HPV genotyping in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *J Mol Diagn*, 13, 377-81.

79. Ntekim et al. 2012 /In Prosper Bado/ Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire

80. Djigma, F. W., Ouedraogo, C., Karou, D. S., Sagna, T., Bisseye, C., Zeba, M., Ouermi, D., Gnoula, C., Pietra, V., Ghilat-Avoid-Belem, N. W., Sanogo, K., Sempore, J., Pignatelli, S., Ferri, A. M., Nikiema, J. B. & Simpore, J. 2011. Prevalence and genotype characterization of human papillomaviruses among HIV-seropositive in Ouagadougou, Burkina Faso. *Acta Trop*, 117, 202-6.

81. Piras et al en 2011; au Benin Prevalence and genotype characterization of human papillomavirus cancer in France/ In Ban Traoré/Génotypage des du HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.

82. Jacquard et al 2010 Human papillomavirus genotypes in cervical/ In Ban Traoré/génotypage des HPV oncogène en circulation au Mali/Master en sciences et techniques.

83. Naucier, P., DA Costa, F. M., Ljungberg, O., Bugalo, A. & Dillner, J. 2004. Human papillomavirus genotypes in cervical cancers in Mozambique. *J Gen Virol*, 85, 2189-90.

84. Zohoncon, T. M., Bisseye, C., Djigma, F. W., Yonli, A. T., Compaoré, T. R., Sagna, T., Ouermi, D., Ouedraogo, C. M., Pietra, V., Nikiema, J. B., Akpona, S. A. & Simpore, J. 2013. Prevalence of HPV High-Risk Genotypes in Three Cohorts of Women in Ouagadougou (Burkina Faso). *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 5, e2013059.

85. Ali-Risasi et al 2004/ In Prosper Bado/

Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire

86. Karly et al 2009/ In Prosper Bado/

Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire

87. De Vuyst, H., Steyaert, S., Van Renterghem, L., Claeys, P., Muchiri, L., Sitati, S., Vansteelandt, S., Quint, W., Kleter, B., Van Marck, E. &

Temmerman, M. 2003. Distribution of human papillomavirus in a family planning population in nairobi, kenya. Sex Transm Dis, 30, 137-42.

88. Sanjosé et al 2007/In Prosper Bado/ Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire.

89. Bosh et al 2004/ In Prosper Bado/ Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire.

90. Thomas et 2004/ In Prosper Bado/ Caractérisation moléculaire par PCR en temps réel de 14 génotypes de Papillomavirus Humains à haut risque dans des cas cancers du col de l'utérus à Ouagadougou (Burkina Faso)/Master II Biologie moléculaire.

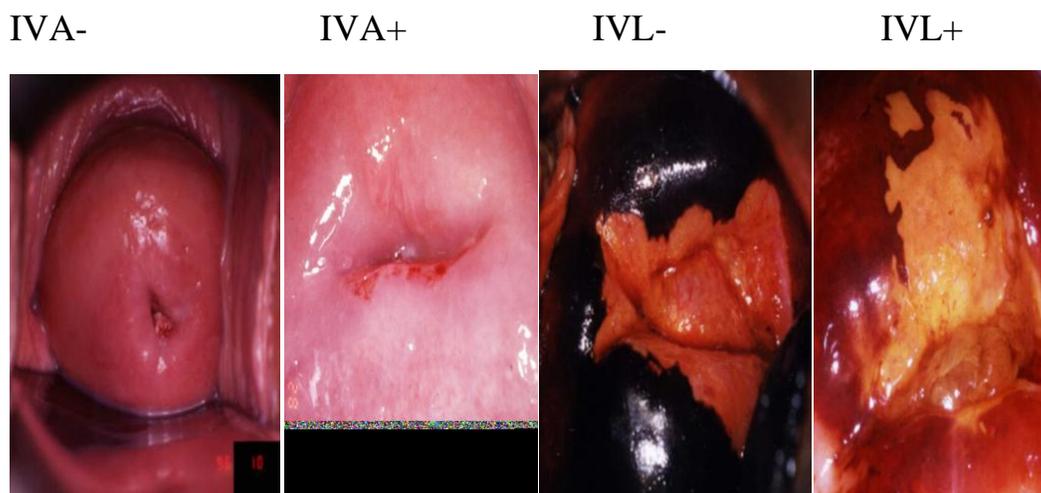
- 91. N'guessan K, Kouakou F, Loué V, Angoi V, Abauleth Y, Boni S. Le cancer du col de l'uterus : Aspects épidémiologiques et prise en charge en milieu africain ; MALI MEDICAL 2009 TOME XXIV N°3 ; P : 27**
- 92. Barasso R. Cancer du col : quel dépistage avant 40 ans ?** *Reprod. Hum. Horm.*, 1995 , 8, 7,413-415.
- 93. Conference de consensus sur le depistage du cancer du col de l'uterus. J. Gynecol.Obstet. Biol.Reprod., 1990, 19,5 bis,7-16**
- 94. N'guessan K, Kouakou F, Loué V, Angoi V, Abauleth Y, Boni S. Le cancer du col de l'uterus : Aspects épidémiologiques et prise en charge en milieu africain ; MALI MEDICAL 2009 TOME XXIV N°3 ; P : 28**
- 95. David BT, Qin Q et al. Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. II. Risk factors for in situ and invasive squamous cell cervical carcinomas. Am J Epidemiol** 2001; 153: 732-9.
- 96. Bayo S, Bosch FX, Munoz N et al. Risk factors of invasive cervical cancer in Mali. Int J Epidemiol** 2002; 31: 202-9.
- 97. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C et al. Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric casecontrol study. Lancet** 2002; 359: 1093-101.
- 98. Autier P, Coibion M et al. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. Br J Cancer** 1996; 74: 488 90
- 99. Sethi S, Muller M, Schneider A et al. Serologic response to the E4, E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. Am J Obstet Gynecol** 1998; 178: 360-4

ANNEXES

Annexe 1 :

Méthode de prélèvement : La colposcopie - les biopsies

Le colposcope est une loupe qui permet d'observer le col à un grossissement de moyen à fort; et de repérer les zones pathologiques. L'application de l'acide acétique 5 % et du lugol les fait bien ressortir. D'abord l'acide acétique à 5 % entraîne une réaction blanche des lésions, ensuite le Lugol fort par le test de Shiller montre les zones iodo-négatives (cellules pathologiques ne produisant pas de glycogène). La colposcopie permet ainsi de mettre en évidence les zones suspectes cancéreuses ou précancéreuses, et de les délimiter exactement permettant ainsi de diriger la biopsie.



(P. Bernard)

P. Bernard. Les explorations cervico-vaginales., In GYNEC. GENE.
VIGOT. 1977. I : 70-8

La biopsie est faite à l'aide d'une pince à biopsie sur les zones suspectes et ne nécessite pas d'anesthésie. Le fragment est fixé immédiatement dans du formol et envoyé au laboratoire d'anatomo-pathologie pour examen histologique.

Annexe 2 :

Protocole d'extraction de l'ADN viral du HPV

Nous avons utilisés le kit FFPE DNA Purification Kit pour l'extraction de l'ADN en suivant le protocole suivant fourni par le fabricant et dans une moindre mesure un ajout. Ce protocole peut être scindé en deux grandes parties : le déparaffinage et l'extraction à proprement parler.

Déparaffinage :

- 1.** Préparer des sections d'au plus 20 microns (25 mg) à partir des blocs de paraffines avec un microtome ;
- 2.** Des tubes nucléase-free à centrifuger, y compris un tube pour le contrôle négatif de l'extraction, sont préparés à la taille de l'échantillon ;
- 3.** Les sections obtenues sont transférées dans les tubes nucléase-free, sur lesquels on ajoute 1mL de xylène, puis on vortexe ;
- 4.** Ce mélange est incubé à 50⁰C pendant 5 minutes et centrifugé à 140000g pendant 2 min ; on verse le surnageant sans déranger le culot (Cette étape est répétée en cas d'excès de paraffine) ;
- 5.** On ajoute au culot, 1 mL d'éthanol absolu (96-100 %) et on vortexe ; Puis une centrifugation à 14000g durant 2 min et le surnageant est versé (cette étape est répétée) ;
- 6. On ajoute du PBS au culot pour les échantillons fixés avec du bouin** (cette étape n'est pas du protocole) ;
- 7.** Le culot est séché à température ambiante pendant 10min (il est nécessaire de vaporiser tout l'éthanol ou le PBS) ;

L'extraction :

La lyse des cellules

8. Dans les tubes contenant les culots séchés, on ajoute respectivement 300µl de Digestion Buffer, 10µl de Protéinase K reconstituée et 1µl de Rnase et ensuite vortexer ;

9. Il va s'en suivre deux incubations successives à 55⁰C et 90⁰C pendant 1 heure chacune tout en vortexant occasionnellement (si à la fin des deux incubations des débris demeurent, on centrifuge en 2 min à 14000g et on transvase le surnageant dans de nouveaux tubes et le culot est abandonné)

10. On ajoute au surnageant, 300µl de Binding Solution (vortexer) et 250µl d'éthanol absolu (96-100 %) puis vortexer.

Rétention de l'ADN dans la colonne

11. Assembler des colonnes de purification à des tubes collecteurs ;

12. Dans la colonne installée dans le tube collecteur on ajoute 600µl du lysat et on centrifuge pendant une 1 min (étape à répéter après avoir jeté le lysat écoulé dans le tube collecteur)

Lavage de la colonne

13. Ajouter 400µl de Wash Solution dans la colonne puis centrifuger à 14000g pendant 1 min, se rassurer que toute la Wash Solution est descendue dans le tube collecteur, au besoin centrifuger à nouveau

14. L'étape précédente est répété 2 fois de suite ; une centrifugation finale de 2 min afin de bien sécher la résine et jeter les tubes collecteurs ;

Elution de l'ADN

15. Les colonnes sont cette fois-ci déposés dans des tubes d'élution de 1,7 mL fournis par le kit ;

16. On ajoute deux fois de suite 20 à 50µl de Elution Buffer dans la colonne suivit d'une incubation de 1 min à température ambiante ;

17. On centrifuge en 1 min à 14000g après l'incubation de chaque volume mis ;
pour une récupération maximale de l'ADN il est recommandé une dernière
centrifugation à 14000g en 1 min ;

Conservation de l'ADN

18. L'ADN purifié peut être conservé à -20°C pendant quelques jours. Pour une
conservation à long terme, il est recommandé que l'ADN extrait soit placé à -70°C.

FICHE D'ENQUÊTE

Nom :

Prénom :

Age :[...]

Tranche d'âge :[...]

{1= 15-30; 2= 31-45; 3= 46-60; 4= 61-75; 5= 76-90}

Parité :[...]

{1 :nullipare ; 2 :primipare ; 3 :paucipare ; 4 :multipare ; 5 :Grande multipare}.....[...]

Partenaire polygame :[...]

{1 :Oui ; 2 :Non}

Prise de contraception :[...]

{1 :Oui ; 2 :Non}

Type histologique :[...]

{1: CIN2 ; 2: CIN3 ; 3: Carcinome épidermoïde ; 4: Adénocarcinome}

Résultat de la PCR

Test HPV :[...]

{1 : Positif ; 2 : Négatif}

Type HPV :[.....]

{1: HPV16; 2: 18; 3: 31; 4: 33; 5: 35; 6: 39; 7: 45; 8: 51; 9: 52; 10: 56; 11: 58; 12: 59; 13: 66}

Type infection :[...]

{1: Unique; 2: Multiple}

FICHE SIGNALETIQUE

NOM ET PRENOM : SOW Amadi Amadou

TITRE DE THESE : Génotypage des Virus du Papillome Humain (VPH/HPV)
dans les lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin à BAMAKO (MALI)

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2017-2018

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque FMOS

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako

PAYS D'ORIGINE : MALI

SECTEUR D'INTERET : Anatomie et Cytologie Pathologiques, biologie
moléculaire, virologie, oncologie moléculaire, santé publique.

RESUME : Introduction : Le cancer du col de l'utérus est dans 99% des cas dû à
un HPV à haut risque. C'est pourquoi nous visons à travers cette étude évaluer la
fréquence des HR-HPV dans des cas de lésions précancéreuses et cancéreuses chez
des femmes à Bamako (MALI).

Matériel et Méthodes : Par PCR multiplex en temps réel, nous avons recherché 14
génotypes HR-HPV dans 192 prélèvements de LIEHG et de cancers invasifs du col
de l'utérus.

Résultats : Des 192 échantillons testés, seulement 43,2% (83/192) avaient un
résultat positif. Le génotypage a révélé la présence de 13 génotypes HR-HPV.
Parmi ces génotypes retrouvés, les plus fréquents étaient HPV18 (16,3%), HPV45
(16,3%). La tranche d'âge la plus représentée était celle de 31-45 ans soit 34,9%
avec des extrêmes de 20 et 72 ans ; la moyenne d'âge était de 41,2 +/- 14,3. La
majorité des femmes avec un HPV positif était des multipares avec 30,9%. Le type
histologique le plus représenté était le CIN2 avec un pourcentage de 42,2%.

Conclusion : Le HPV18, 45 était les plus fréquents dans les échantillons.

Mots clés : HPV, Néoplasies, Col utérin, PCR multiplex, Bamako (Mali).

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette faculté, de mes chers condisciples, devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail ; je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine dès la conception.

Même sous menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

JE LE JURE !